

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS

FORMULACIÓN DE UN GEL DENTAL DE LIMPIEZA A BASE DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri* Lush (LIMÓN RISSO) Y DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD *IN-VITRO* FRENTE A LA CEPA DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175

PRESENTADO POR:

Br. YENDIRA HUAMAN CONDORI

Br. YAQUELIN MILUSKA ORAICA
ATAUSINCHI

**PARA OPTAR AL TÍTULO
PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

ASESORA:

Dra. CARLA DEL CARPIO JIMÉNEZ

CUSCO - PERÚ

2025

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, **Asesor** del trabajo de investigación/tesistitulada: FORMULACIÓN DE UN GEL DENTAL DE LIMPIEZA A BASE DE LOS ACEITES ESENCIALES DE Piper aduncum (Matico) y Citrus jambhiri Lush (LIMÓN BISSO) Y DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD IN-VITRO FRENTE A LA CEPA DE streptococcus mutans ATCC 25175

Presentado por: YENDIRA HUAMAN CONDOBI DNI N° 73316372

presentado por: YAQUELÍN NILUSKA ORAICA ATAUJINCHI DNI N°: 76480075

Para optar el título profesional/grado académico de QUÍMICO FARMACÉUTICO

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 02 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 10 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	<input checked="" type="checkbox"/>
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	<input type="checkbox"/>
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	<input type="checkbox"/>

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** las primeras páginas del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 28 de agosto de 2025



Firma

Post firma Anahi Karina Cardona Rivero

Nro. de DNI 23998511

ORCID del Asesor 0000-0001-6397-9162

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: **oid:** 27259:486523544

TESIS YENDIRA Y YAQUELIN.docx

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:486523544

Fecha de entrega

24 ago 2025, 8:45 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

24 ago 2025, 9:36 p.m. GMT-5

Nombre del archivo

TESIS YENDIRA Y YAQUELIN.docx

Tamaño del archivo

22.3 MB

233 páginas

49.614 palabras

273.284 caracteres

10% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Exclusiones

- ▶ N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 10%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 3%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
52 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIAS

A Dios, por permitirme alcanzar un meta más en mi formación y vida profesional, y darme su ayuda para superar los momentos difíciles a lo largo del camino.

También, dedico esta investigación con mucho amor y admiración a papá y mamá, Rosalio Huaman Jaimes y Yenny Condori Huallpayunca, por ser personas maravillosas que siempre estuvieron a mi lado. Gracias por su apoyo constante en todos los aspectos de mi vida, por nunca dejarme sola, por su esfuerzo, dedicación, sacrificio, por todo el amor y cariño que me han brindado. Gracias a ustedes soy quien soy ahora. Este logro académico es un reflejo del esfuerzo inagotable que han dedicado para ofrecerme una educación sólida, es un reflejo de su sacrificio y amor. Me siento orgullosa de honrarlos de esta manera.

A mis hermanos, Edizon y Lucy Fabiola, por sus palabras de aliento, por sus consejos y apoyo incondicional. Su confianza en mí y su constante apoyo fueron esenciales para alcanzar este logro.

Yendira Huaman Condori

A Dios, por ser la fuente de luz y fortaleza en mi vida, guiándome en cada paso de este camino académico y brindándome la sabiduría necesaria para alcanzar mis metas.

A mis queridos padres, Richard y Ramosa, por su amor incondicional, apoyo constante, dedicación y sacrificios que han hecho posible alcanzar este logro. Su confianza en mí ha sido un pilar fundamental en mi formación personal y profesional.

A mis abuelos, Martín, Justina, Teodosio y María Rosa, por sus enseñanzas, valores y amor inquebrantable. Su legado ha dejado una huella profunda en mi vida y me ha inspirado a seguir adelante.

Y a mis tíos y tías, por su aliento, consejos y apoyo a lo largo de mi vida. Su presencia y cariño han enriquecido mi experiencia y me han motivado en cada etapa de este recorrido.

Yaquelin Miluska Oraica Atausinchi

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Dios por darnos salud y vida, por permitirnos alcanzar y cumplir nuestras metas.

A nuestra alma mater, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, por ofrecernos la educación y las oportunidades que dieron forma a nuestro futuro. Cada día en las aulas de esta casa de estudios fueron una experiencia valiosa, tiempos de crecimiento y aprendizaje que siempre los valoraremos.

A nuestra asesora Dra. Carla del Carpio Jiménez, por brindarnos todo su apoyo, por compartarnos su sabiduría y conocimientos, por su paciencia, constante motivación y orientación en cada etapa de este trabajo de investigación. Le estaremos eternamente agradecidas.

A todos nuestros docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, por haber compartido sus conocimientos, sus consejos y por su dedicación. Su compromiso fue clave en nuestra formación profesional y personal.

Yendira Huaman Condori y Yaquelin Miluska Oraica Atausinchi

ÍNDICE

DEDICATORIAS	1
AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xii
ABREVIATURAS	xiii
INTRODUCCIÓN	xiv
CAPÍTULO I	1
ASPECTOS GENERALES	1
1.1. Planteamiento del problema.....	1
1.2. Formulación del problema.....	2
1.3. Objetivos de la investigación.....	3
1.3.1. Objetivo general	3
1.3.2. Objetivos específicos.....	3
1.4. Justificación de la investigación.....	3
1.5. Hipótesis.....	5
CAPÍTULO II	5
MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL	5
2.1. Visión histórica	5
2.2. Antecedentes de la investigación	6
2.2.1. Antecedentes internacionales	6
2.2.2. Antecedentes nacionales.....	13
2.2.3. Antecedentes locales.....	19
2.3. Estado del arte	23
2.4. Bases teórico científicas	24
2.4.1. Especie vegetal <i>Piper aduncum</i> (Matico)	24
2.4.1.1. Características.....	24
2.4.1.2. Hábitat.....	25
2.4.1.3. Cultivo.....	25
2.4.1.4. Distribución	26
2.4.1.5. Usos del matico.....	26
2.4.1.6. Propiedades	26
2.4.1.7. Composición química.....	26
2.4.2. Especie vegetal <i>Citrus jambhiri</i> Lush (Limón Risso)	27
2.4.2.1. Características.....	27
2.4.2.2. Hábitat.....	29

2.4.2.3. Cultivo	29
2.4.2.4. Distribución	29
2.4.2.5. Usos del limón	30
2.4.2.6. Propiedades	30
2.4.2.7. Composición química	30
2.5. Descripción de la cepa a utilizar	32
2.5.1. <i>Streptococcus mutans</i>	32
2.5.1.1. Clasificación científica	32
2.5.1.2. Descripción.....	32
2.5.1.3. Caries	32
2.5.1.4. Medios de cultivo	34
2.5.1.5. Ensayos para evaluar el efecto antimicrobiano	34
2.6. Gel.....	36
2.6.1. Características	36
2.6.2. Tipos de geles	37
2.7. Gel dental.....	37
2.7.1. Forma de elaboración	38
2.7.2. Control de calidad del gel dental elaborado	38
CAPÍTULO III	43
MATERIALES Y MÉTODOS	43
3.1. Material biológico	43
3.1.1. Material vegetal.....	43
3.1.2. Material microbiano	43
3.2. Materiales e instrumentos.....	43
3.2.1. Materiales de campo	43
3.2.2. Materiales de laboratorio	43
3.2.3. Equipos de laboratorio	44
3.2.4. Solventes y reactivos	44
3.2.5. Insumos para la elaboración del gel dental de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri Lush</i> “Limón Risso”	45
3.2.6. Medios de cultivo	45
3.2.7. Otros materiales	45
3.3. Diseño de la investigación.....	45
3.3.1. Diseño metodológico	45
3.3.1.1. Tipo de investigación.....	45
3.3.1.2. Diseño de investigación.....	46

3.3.2. Diseño de la prueba de actividad antibacteriana sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri</i> Lush “Limón Risso” por el método de macrodilución (Concentración Mínima Inhibitoria).....	46
3.3.3. Diseño de la formulación de gel dental elaborado a partir de los aceites esenciales.....	47
3.3.4. Determinación de propiedades organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas del gel dental de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri</i> Lush “Limón Risso”	48
3.3.5. Diseño de prueba antibacteriana del gel dental elaborado con los aceites esenciales por el método de kirby bauer modificado.....	49
3.3.6. Diseño de prueba de actividad antibacteriana sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 del gel dental elaborado con los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri</i> Lush “Limón Risso” por el método de macrodilución	50
3.4. Definición y operacionalización de variables	51
3.4.1. Variables implicadas	51
3.4.1.1. Variables independientes	51
3.4.1.2. Variables dependientes	57
3.4.2. Variables no implicadas	68
3.4.2.1. Variables intervinientes.....	68
3.5. Criterios de inclusión y exclusión	69
3.6. Procedimiento general.....	70
3.6.1. Preparación de la muestra vegetal	72
3.6.2. Determinación de porcentaje de humedad	72
3.6.3. Extracción del aceite esencial	73
3.6.4. Determinación del porcentaje de rendimiento	73
3.6.5. Pruebas de solubilidad	73
3.6.6. Determinación de las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri</i> Lush “Limón Risso”.....	74
3.6.7. Determinación de la composición del aceite esencial por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.....	76
3.6.8. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por macrodilución de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) y <i>Citrus jambhiri</i> Lush (Limón Risso).....	76
3.6.9. Formulación y elaboración del gel dental de limpieza a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri</i> Lush “Limón Risso”	87
3.6.10. Control de calidad del gel dental	92
3.6.10.1. Control de calidad organoléptico.....	92

3.6.10.2. Control de calidad fisicoquímico.....	93
3.6.10.3. Control de calidad microbiológico.....	95
3.6.11. Evaluación de la actividad antibacteriana del gel dental, sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, difusión en pozo (Kirby Bauer Modificado).....	100
3.6.11.1. Procedimiento para la determinación de la actividad antibacteriana del gel dental elaborado con los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri</i> Lush “Limón Risso” sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	101
3.6.12. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) por macrodilución del gel dental de limpieza elaborado a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) Y <i>Citrus jambhiri</i> Lush (Limón Risso).....	106
3.6.13. Determinación del efecto sinérgico en la actividad antibacteriana entre los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) y <i>Citrus jambhiri</i> Lush (Limón risso).....	110
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	111
3.8. Técnicas de análisis de datos.....	112
CAPÍTULO IV.....	114
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	114
4.1. Determinación del porcentaje de humedad.....	114
4.1.1. Determinación del porcentaje de humedad de las hojas de <i>Piper aduncum</i> (Matico).....	114
4.1.2. Determinación del porcentaje de humedad de las hojas de <i>Citrus jambhiri</i> Lush (Limón Risso).....	115
4.1.3. Determinación del porcentaje de humedad de la cáscara de <i>Citrus jambhiri</i> Lush (Limón Risso).....	117
4.2. Determinación del porcentaje de rendimiento de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) y <i>Citrus jambhiri</i> Lush (Limón Risso).....	118
4.3. Pruebas de solubilidad de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) Y <i>Citrus jambhiri</i> Lush (Limón Risso).....	119
4.4. Determinación de las propiedades organolépticas de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) y <i>Citrus jambhiri</i> Lush (Limón Risso).....	121
4.5. Determinación de las propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) Y <i>Citrus jambhiri</i> Lush (Limón Risso).....	122
4.6. Determinación de la composición química del aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> (Matico) por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.....	126
4.7. Determinación de la composición química del aceite esencial de <i>Citrus jambhiri</i> Lush (Limón Risso) por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.....	130

4.8. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> (Matico) por el método de macrodilución, frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	134
4.9. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso) por el método de macrodilución, frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	136
4.10. Preformulación del gel dental de limpieza a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) y <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso)	138
4.11. Características organolépticas y fisicoquímicas de las preformulaciones.	139
4.12. Formulación y elaboración del gel dental de limpieza a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) y <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso).....	140
4.13. Control de calidad organoléptico del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) y <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso).	141
4.14. Control de calidad fisicoquímico del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) y <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso).	143
4.15. Control de calidad microbiológico del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) Y <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso).....	147
4.16. Evaluación <i>in-vitro</i> del efecto antibacteriano del gel dental de limpieza elaborado a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> “Matico” Y <i>Citrus jambhiri Lush</i> . “Limón Risso” a diferentes concentraciones frente a la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	148
4.16.1. Análisis estadístico de la evaluación del efecto antibacteriano <i>in-vitro</i> generado por el gel dental de limpieza elaborado a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> “Matico” Y <i>Citrus jambhiri Lush</i> “Limón Risso”	150
4.17. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del gel dental de limpieza elaborado a base del aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> “Matico” Y <i>Citrus jambhiri Lush</i> “Limón Risso”.....	153
4.17.1. Determinación del efecto sinérgico en la actividad antibacteriana entre los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) y <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón risso) mediante el Índice de Fracción Inhibitoria Combinada (FICI).....	154
CONCLUSIONES	157
SUGERENCIAS	159
BIBLIOGRAFÍA	160
ANEXOS	169
ARCHIVO FOTOGRÁFICO	187

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 3.1. Diseño de la prueba de actividad antibacteriana sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) Y <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso) por el método de macrodilución	46
Tabla N° 3.2. Diseño de la formulación del gel dental a partir de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri Lush</i> “Limón Risso”	47
Tabla N° 3.3. Diseño de prueba antibacteriana del gel dental elaborado con el aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri Lush</i> “Limón Risso”	49
Tabla N° 3.4. Diseño de prueba de actividad in vitro sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> “Matico” <i>Citrus jambhiri Lush</i> “Limón Risso” por el método de macrodilución.	50
Tabla N° 3.5. Resumen de operacionalización de variables implicadas	59
Tabla N° 3.6. Pruebas de solubilidad	74
Tabla N° 3.7. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> (Matico)	79
Tabla N° 3.8. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso)	84
Tabla N° 3.9. Formulación del gel dental de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri Lush</i> “Limón Risso”	89
Tabla N° 3.10. Criterios de aceptación para la calidad de formas farmacéuticas no estériles, productos cosméticos.	100
Tabla N° 4.1. Resultados del porcentaje de humedad de las hojas de <i>Piper aduncum</i> (Matico).....	114
Tabla N° 4.2. Resultados del porcentaje de humedad de las hojas de <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso)	115
Tabla N° 4.3. Resultados del porcentaje de humedad de la cáscara de <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso)	117
Tabla N° 4.4. Resultados del porcentaje de rendimiento del aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri</i> “Limón Risso”	118
Tabla N° 4.5. Resultados de pruebas de solubilidad de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) Y <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso)	119
Tabla N° 4.6. Resultados de las propiedades organolépticas del aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri Lush</i> “Limón Risso”	121
Tabla N° 4.7. Resultados de las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri Lush</i> “Limón Risso”	122
Tabla N° 4.8. Composición química del aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> (Matico). 126	
Tabla N° 4.9. Composición química del aceite esencial de <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso)	130
Tabla N° 4.10. Resultados de la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> (Matico) por el método de macrodilución, frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	134

Tabla N° 4.11. Resultados de la determinación de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso) por el método de macrodilución frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	136
Tabla N° 4.12. Preformulaciones del gel dental de limpieza.....	138
Tabla N° 4.13. Características organolépticas y fisicoquímicas de las preformulaciones.	139
Tabla N° 4.14. Formulación y elaboración del gel dental a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri Lush</i> “Limón Risso”.....	140
Tabla N° 4.15. Resultados del control de calidad organoléptico del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) Y <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso).....	141
Tabla N° 4.16. Resultados del control de calidad fisicoquímico del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) Y <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso).....	143
Tabla N° 4.17. Resultados del control microbiológico del gel dental elaborado a base del aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri Lush</i> . “Limón Risso”	147
Tabla N° 4.18. Lectura de los halos de inhibición obtenidos del gel dental de limpieza elaborado a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri Lush</i> . “Limón Risso” a diferentes concentraciones frente a la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	148
Tabla N° 4.19. Estadísticas descriptivas de los diámetros de los halos de inhibición (mm) del gel dental de limpieza elaborado con los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> “Matico” Y <i>Citrus jambhiri Lush</i> . “Limón Risso” frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	150
Tabla N° 4.20. Análisis de varianza (ANOVA) de los diámetros de los halos de inhibición (mm) del gel dental de limpieza elaborados con los aceites esenciales de <i>Piper Aduncum</i> “Matico” Y <i>Citrus Jambhiri Lush</i> . “Limón Risso” frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	151
Tabla N° 4.21. Comparación de los diámetros de los halos de inhibición (mm) del gel dental de limpieza elaborado con los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri Lush</i> . “Limón Risso” frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. ...	152
Tabla N° 4.22. Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del gel dental de limpieza elaborado a base del aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri Lush</i> “Limón Risso” frente a la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	153

ÍNDICE DE FLUJOGRAMAS

Flujograma N° 1. Procedimiento general de la investigación	71
Flujograma N° 2. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> (Matico) por el método de macrodilución.	80
Flujograma N° 3. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso) por el método de macrodilución.	85

Flujograma N° 4. Elaboración del gel dental de limpieza a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) y <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso).....	91
Flujograma N° 5. Determinación de la actividad antibacteriana del gel dental elaborado sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 por el método Kirby Bauer Modificado (difusión en pozos)	104
Flujograma N° 6. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (Matico) y <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso) por el método de macrodilución.	108

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1. Especie Vegetal <i>Piper aduncum</i> L. (Matico).....	25
Figura N°2. Especie vegetal <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso).....	28
Figura N°3. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> (Matico) por el método de macrodilución.	81
Figura N°4. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso) por el método de macrodilución.	86
Figura N°5. Detección de aerobios mesófilos	96
Figura N°6. Recuento de hongos y levaduras.....	97
Figura N°7. Recuento de <i>Escherichia coli</i>	98
Figura N°8. Recuento de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	99
Figura N°9. Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	99
Figura N°10. Ensayo de la actividad antibacteriana del gel dental de limpieza formulado por el método de Kirby Bauer Modificado.....	105
Figura N°11. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por macrodilución del gel dental elaborado.....	109
Figura N°12. Porcentaje de humedad de las hojas de <i>Piper aduncum</i> (Matico).....	114
Figura N°13. Porcentaje de humedad de las hojas de <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso)	116
Figura N°14. Porcentaje de humedad de la cáscara de <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso)	117
Figura N°15. Cromatograma con los picos correspondientes a cada uno de los compuestos identificados en el aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> (Matico)	127
Figura N°16. Cromatograma con los picos correspondientes a cada uno de los compuestos identificados en el aceite esencial de <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso)	131

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue formular un gel dental de limpieza a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso) y determinar su actividad *in-vitro* frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La metodología fue de diseño experimental, tipo cuasiexperimental. Se recolectaron e identificaron las especies vegetales, se evaluaron las características organolépticas y fisicoquímicas de los aceites esenciales y se determinó su composición química por CG-EM. La actividad antibacteriana se determinó mediante el método de macrodilución en caldo. Con base en la CMI obtenida, se formularon geles dentales con diferentes concentraciones de aceites esenciales (1%, 2% y 3%), evaluando posteriormente su actividad antibacteriana *in-vitro* mediante Kirby-Bauer Modificado frente al gel control (Colgate) y antibióticos (ciprofloxacino, clindamicina). Asimismo, se realizaron análisis de calidad organolépticos, fisicoquímicos y microbiológicos de los geles dentales elaborados.

Los resultados mostraron que los aceites esenciales presentaron una CMI al 50% frente al *S. mutans*. El gel al 1% generó un halo de inhibición de 16.3 mm, superior al 2% (14.2 mm) y 3% (13.4 mm). El gel patrón presentó 21.5 mm, mientras que clindamicina y ciprofloxacino mostraron 26.5 y 35.9 mm. El gel base no evidenció actividad antibacteriana. Los geles formulados cumplieron con las pruebas de calidad, sin presencia de microorganismos contaminantes.

En conclusión, el gel dental de limpieza formulado con aceites esenciales de *Piper aduncum* y *Citrus jambhiri*, posee actividad antibacteriana frente a *S. mutans*, representando una alternativa natural para prevenir y combatir la caries dental.

Palabras clave: *Piper aduncum*, *Citrus jambhiri* Lush, *Streptococcus mutans*, gel dental.

ABSTRACT

The objective of this study was to formulate a cleaning dental gel based on the essential oils of *Piper aduncum* (Matico) and *Citrus jambhiri* Lush (Risso lemon) and determine its in vitro activity against the *Streptococcus mutans* ATCC 25175 strain.

The methodology was experimental in design, quasi-experimental in nature. Plant species were collected and identified, the organoleptic and physicochemical characteristics of the essential oils were evaluated, and their chemical composition was determined by GC-MS. Antibacterial activity was determined using the broth macrodilution method. Based on the MIC obtained, dental gels were formulated with different concentrations of essential oils (1%, 2%, and 3%), and their antibacterial activity was subsequently evaluated in vitro using the modified Kirby-Bauer method against the control gel (Colgate) and antibiotics (ciprofloxacin, clindamycin). Organoleptic, physicochemical and microbiological quality analyses were also performed on the dental gels produced.

The results showed that the essential oils had a 50% MIC against *S. mutans*. The 1% gel generated an inhibition zone of 16.3 mm, higher than the 2% (14.2 mm) and 3% (13.4 mm) gels. The standard gel showed 21.5 mm, while clindamycin and ciprofloxacin showed 26.5 and 35.9 mm. The base gel showed no antibacterial activity. The formulated gels passed quality tests, with no presence of contaminating microorganisms.

In conclusion, the dental cleaning gel formulated with essential oils of *Piper aduncum* and *Citrus jambhiri* has antibacterial activity against *S. mutans*, representing a natural alternative for preventing and combating dental caries.

Key words: *Piper aduncum*, *Citrus jambhiri* Lush, *Streptococcus mutans*, dental gel.

ABREVIATURAS

ATCC:	American Type Culture Collection
OMS:	Organización Mundial de la Salud
MINSA:	Ministerio de Salud
ANOVA:	Análisis de Varianza
CMI:	Concentración Mínima Inhibitoria
CG/EM:	Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas
UFC:	Unidades Formadoras de Colonias
g:	Gramos
mL:	Mililitros
uL:	Microlitros
mg:	Miligramos
m.s.n.m:	Metros sobre el nivel del mar
AE:	Aceite esencial
pH:	Potencial de hidrogeniones
BHI:	Caldo Infusión Cerebro Corazón
TSA:	Agar Trypticaseína Soya
FICI:	Índice de Fraccionamiento Inhibitorio Combinado

INTRODUCCIÓN

El uso de plantas medicinales ha sido una práctica ancestral en diversas culturas del mundo para tratar múltiples enfermedades. Estas plantas contienen compuestos bioactivos que han demostrado efectos terapéuticos, siendo actualmente investigadas como fuentes potenciales de nuevos agentes antimicrobianos. En la actualidad, la medicina tradicional y la fitoterapia han cobrado renovado interés frente a la creciente resistencia bacteriana y los efectos adversos de fármacos sintéticos. (1)

La caries dental es una de las enfermedades infecciosas más prevalentes a nivel global. Se caracteriza por la destrucción progresiva de los tejidos dentales como resultado de la actividad bacteriana en la cavidad oral. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2022), más del 60% de los escolares en América Latina presentan caries dental. En el Perú, datos del Ministerio de Salud (MINSA, 2023) indican que la prevalencia supera el 85% en niños en edad escolar en regiones como Cusco. (2)

Uno de los principales agentes etiológicos es *Streptococcus mutans*, bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa y acidogénica, que forma parte del biofilm dental. Esta especie tiene la capacidad de metabolizar azúcares y producir ácidos que favorecen la desmineralización del esmalte, dando inicio al proceso carioso. (3)

Por ello, surge la necesidad de desarrollar alternativas naturales, eficaces y seguras para el control de la microbiota oral. En este contexto, los aceites esenciales de plantas como *Piper aduncum* (matico) y *Citrus jambhiri* (Limón risso) han demostrado actividad antimicrobiana frente a bacterias patógenas, incluyendo cepas bucales. *Piper aduncum* posee compuestos como el Methyl eugenol, con acción bactericida, mientras que *Citrus jambhiri* contiene limoneno y citral, reconocidos por su capacidad de alterar la membrana bacteriana y disminuir la viabilidad celular. (3)

Partiendo de esta evidencia, se plantea como propuesta de solución el desarrollo de un gel dental fitoterapéutico que incorpore ambos aceites esenciales. Esta formulación busca aprovechar el posible efecto sinérgico entre sus componentes para inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans*, contribuyendo así a la prevención de la caries de forma natural y accesible.

Por tanto, el presente estudio tuvo como objetivo formular un gel dental de limpieza a base de aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri* Lush (LIMÓN RISSO) y determinar su actividad *in vitro* frente a la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

CAPÍTULO I

ASPECTOS GENERALES

1.1. Planteamiento del problema

La caries dental es una de las enfermedades crónicas más prevalentes a nivel mundial y constituye un serio problema de salud pública. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2022), alrededor del 45 % de la población mundial padece enfermedades bucodentales y aproximadamente 2 mil millones de personas presentan caries en la dentición permanente (4). En el Perú, el Ministerio de Salud (MINSA, 2019) reportó una prevalencia del 90.4 % en la población general, mientras que en la región Cusco esta cifra asciende al 97.2 %. A nivel local, la situación en el año 2024 continúa siendo crítica, particularmente en la población escolar, donde cerca 9 de cada 10 niños (85.6 %) presentan al menos una lesión de caries. Asimismo, se estima que aproximadamente el 90 % de los adultos mayores de 20 años también padecen esta afección. (5)

La caries dental es una afección infecciosa y contagiosa, de etiología multifactorial, que se manifiesta mediante la degradación de los tejidos calcificados de los dientes, comenzando con una desmineralización localizada y gradual de la parte inorgánica del diente, seguida por el deterioro de su componente orgánico, esto a causa del ácido que segregan las bacterias al sintetizar el azúcar. (6)

El principal patógeno implicado en este proceso es el *Streptococcus*, especialmente la especie *S. mutans*, patógeno grampositivo con un elevado factor de virulencia que le confiere una capacidad de formación de biopelículas que se conoce como placa dental en la superficie de los dientes, además de tener la capacidad de formar ácidos orgánicos y soportar pH muy bajos. (7)

Cuando no se trata de manera oportuna, la caries puede evolucionar hacia lesiones irreversibles que afectan la función masticatoria, la estética, el habla y la autoestima del paciente, afectando de manera significativa la calidad de vida. Por ello, la prevención mediante prácticas de higiene oral adecuadas y el uso de productos dentales eficaces resulta esencial. (7)

Si bien el uso de compuestos como el flúor ha demostrado efectividad en la prevención de caries, su uso prolongado puede conllevar efectos adversos, como fluorosis dental e incluso posibles riesgos sistémicos. Esta preocupación ha motivado una creciente búsqueda de alternativas naturales, seguras y eficaces. En este sentido, los aceites esenciales han sido propuestos como agentes antimicrobianos de origen vegetal con

alto potencial terapéutico. No obstante, la evidencia científica sobre su eficacia en salud bucal aún es limitada, especialmente en formulaciones combinadas. (7)

El matico (*Piper aduncum*), es una planta medicinal que presenta flavonoides, alcaloides, saponinas, taninos, terpenos en su composición, los cuales le otorgan propiedades antimicrobianas, asimismo según estudios, el extracto de esta especie podría tener actividad frente al *Streptococcus mutans*, microorganismo que causa la caries dental, según Yudith (2019) por lo que se sugiere que tiene un potencial para la prevención de este problema bucodental. (8) Asimismo, el aceite esencial de *Piper aduncum* posee propiedades antimicrobianas, antisépticas y efecto fungistático según investigaciones. (9)

En caso de la especie del *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso), en especial su aceite esencial, al igual que de la mandarina y la naranja, algunos estudios indican que puede presentar una actividad bacteriostática y en algunos casos, bactericida contra bacterias Gram positivas como Gram negativas. En resumen, según la información recopilada, el uso de los aceites esenciales a través de la biotecnología podría ser beneficioso y ayudaría en el cuidado de la salud bucal sin afectar la microflora natural del individuo. (10)

Sin embargo, hasta la fecha no se han reportado estudios que evalúen su posible acción sinérgica en una formulación conjunta ni su eficacia específica frente a la cepa de *Streptococcus mutans* en un modelo experimental controlado.

Por consiguiente, esta investigación tiene como objetivo formular un gel dental a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* y *Citrus jambhiri Lush* y determinar su actividad antimicrobiana *in vitro* frente a la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175. De este modo, se busca aportar una alternativa profiláctica y terapéutica de origen natural para la prevención de la caries dental, alineada con el enfoque actual de salud integral, sostenible y basada en recursos locales.

1.2. Formulación del problema

¿Presentará actividad *in-vitro* frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, el gel dental de limpieza formulado con la combinación de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO)?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Formular un gel dental de limpieza a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO) y determinar su actividad *in-vitro* frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

1.3.2. Objetivos específicos

1. Caracterizar organoléptica y fisicoquímicamente los aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO).
2. Identificar la composición química de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO) mediante el método de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM).
3. Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) individual de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO), frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, utilizando la técnica de macrodilución.
4. Formular un gel dental a base de la combinación de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO).
5. Evaluar las propiedades organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas del gel dental formulado con los aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO).
6. Determinar la actividad antibacteriana *in-vitro* frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 del gel dental formulado, empleando el método de difusión en pozo (Kirby Bauer Modificado).
7. Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del gel dental formulado con los aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO), frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, utilizando la técnica de macrodilución.

1.4. Justificación de la investigación

Justificación teórica

El uso de plantas medicinales como fuente de compuestos bioactivos con potencial terapéutico ha sido ampliamente documentado, especialmente en el campo de la fitoterapia. Dentro de este grupo, los aceites esenciales destacan por su composición rica en terpenos y otros metabolitos secundarios con reconocida actividad antimicrobiana. Diversos estudios han evidenciado que estos compuestos pueden inhibir el crecimiento de bacterias patógenas, incluyendo aquellas asociadas a

enfermedades bucales como la caries dental, siendo *Streptococcus mutans* el principal agente etiológico. (11) (12) .

En este contexto, *Piper aduncum* (matico) ha demostrado actividad antimicrobiana atribuida a sus compuestos fenólicos y monoterpenos, mientras que *Citrus jambhiri* (limón risso) posee propiedades antimicrobianas y antioxidantes relacionadas con su contenido en limoneno y citral. Sin embargo, la mayoría de estudios se han centrado en la evaluación individual de estos aceites esenciales, donde pocos han explorado su aplicación combinada en formulaciones dentales. Menor aún es la evidencia respecto a su uso en forma de gel dental, lo que evidencia una brecha en la literatura científica actual.

Además, no se ha caracterizado adecuadamente el posible efecto sinérgico de ambos aceites frente a *S. mutans*, ni su influencia en las propiedades organolépticas del producto. En particular, el aceite de *Citrus jambhiri* podría mejorar el aroma y sabor del gel, contribuyendo a una mejor aceptación por parte del usuario. Esta investigación busca así aportar conocimiento novedoso en farmacología odontológica, evaluando una alternativa natural que integre eficacia antimicrobiana, aceptabilidad sensorial y origen vegetal.

Justificación Práctica

La caries dental continúa siendo una de las principales causas de morbilidad bucodental en el Perú, con una prevalencia nacional del 90.4% y que alcanza hasta el 97.2% en escolares de la región Cusco, según datos del Ministerio de Salud (MINSA, 2018). Esta elevada incidencia se relaciona con deficiencias en los hábitos de higiene oral, el alto consumo de azúcares simples y el limitado acceso a productos dentales efectivos y económicamente accesibles en comunidades rurales y periurbanas. (13)

El uso de plantas medicinales como el matico y el limón risso, ampliamente conocidas en la medicina tradicional, representa una oportunidad para diseñar productos naturales con aceptación local. Un gel dental elaborado con estos insumos no solo permitiría aprovechar su potencial antimicrobiano, sino que también respondería a la creciente demanda del mercado por productos libres de compuestos sintéticos y ambientalmente sostenibles. (14)

Desde una perspectiva económica, el desarrollo de este gel puede reducir costos al utilizar materias primas locales, disminuyendo la dependencia de ingredientes importados. Esto abre la posibilidad de producción a pequeña escala (emprendimientos

artesanales) o incluso su escalamiento industrial bajo normativas regulatorias vigentes, promoviendo el desarrollo económico regional.

Asimismo, al formular un producto funcional con múltiples beneficios (limpieza, prevención y sabor agradable), se contribuye a mejorar la adherencia a la higiene bucal, especialmente en poblaciones vulnerables donde el acceso a atención odontológica es limitado.

En resumen, esta propuesta se alinea con los objetivos de salud pública y sostenibilidad, al integrar el conocimiento tradicional con la innovación científica en una formulación potencialmente efectiva, natural y culturalmente relevante.

1.5. Hipótesis

El gel dental formulado con la combinación de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO) tiene actividad antibacteriana frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1. Visión histórica

Desde hace muchos años las personas siempre se han inquietado por el aspecto de sus dientes y la higiene bucodental, aún más con la incidencia de caries que fue incrementando gradualmente a medida que en la dieta aumentaba los carbohidratos, aunque los métodos empleados podían variar dependiendo de la cultura y del origen territorial. (15)

En el Papiro de Ebers, 1500 a. C. se describe uno de los primeros dentífricos, una fórmula magistral elaborada a partir de la corteza de *Pistacia terebinthus*, un arbusto rico en sustancias resinosas con propiedades antiinflamatorias y la *Ceratonia siliqua* de la familia *Caesalpinaceae* con propiedades demulgentes. En la época del medievo las evidencias arqueológicas indican que los árabes empleaban la piedra pómez y en algunos casos arena fina como dentífricos. En el mundo grecorromano era común el uso de productos naturales como la orina, debido a las propiedades químicas y blanqueadoras que posee el amoníaco. (16)

Las personas pertenecientes a la cultura mesoamericana como los Mayas, utilizaron sustancias de origen animal como cenizas de la iguana y de origen vegetal como el chacmun, que viene a ser la raíz de la planta *Rauwolfia heterophylla Willad* para combatir los problemas bucales. En 1892, el farmacéutico y cirujano dental Washington Sheffield

Wentworth inventó la primera pasta dental y en 1950 Joseph Muhler realizó un estudio de una pasta dental donde el flúor fue uno de los componentes principales, la investigación reveló que los niños de 6 a 16 años reflejaron una reducción del 49% del desarrollo de caries dental mientras que los adultos redujeron el deterioro de los dientes en casi la misma proporción, desde ahí el uso de la pasta dental fluorada, aunque actualmente según las investigaciones se sabe que el flúor es un elemento tóxico para los niños y un exceso de cantidad puede producir fluorosis dental, que es la debilidad y el manchado de los dientes. (17)

El “matico” (*Piper aduncum*) es una planta cosmopolita que pertenece a la familia Piperaceae, oriunda de América del sur, crece tanto en la costa, selva alta, selva baja y en los valles interandinos de la sierra peruana. A partir de la época incaica debido a sus propiedades analgésicas, antimicóticas y cicatrizantes, fue empleada para distintos malestares como problemas ginecológicos, hemorragias internas, infecciones y diarreas, actualmente estudios brasileños describieron excelentes resultados de las actividades del mático contra bacterias que causan la caries dental, por lo que sugieren que esta planta puede tener un potencial para prevenir la caries dental y disminuir el muguet oral. (18)

El “Limón Risso” (*Citrus jambhiri Lush*) llegó al Perú durante la colonización española y actualmente es considerada de identidad peruana debido a los cambios que tuvo en su naturaleza durante su adaptación, por lo que hoy en día se destaca como uno de los países que más meses del año cosecha este cítrico, el cual se caracteriza por ser una fuente rica de vitamina C, perteneciente a la familia Rutaceae. En la medicina tradicional para el jugo de limón incluyen el tratamiento de resfriados comunes, períodos irregulares e hipertensión. (19)

2.2. Antecedentes de la investigación

2.2.1. Antecedentes internacionales

- **CHAIANA FROÉS MAGALHÃES, ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE *Piper aduncum* CONTRA LAS BACTERIAS DE LA PLACA DENTAL *STREPTOCOCCUS MUTANS* Y *STREPTOCOCCUS SANGUINIS*, Brasil, 2016.**

El objetivo de la investigación fue evaluar la actividad antibacteriana de los extractos de hojas de *Piper aduncum* (matico) frente a las bacterias cariogénicas (*Streptococcus mutans*) y asociado a la salud (*Streptococcus sanguinis*). En la metodología se obtuvieron los extractos por decocción, maceración, Soxhlet o turbo-extracción, asimismo se usó la técnica de microdilución en caldo para la

determinación de la CMI de las muestras, se usó la técnica de caída del pH glucolítico y adherencia a la superficie del vidrio para evaluar la influencia de la muestra sobre los rasgos de virulencia de *S. mutans*. Como resultado, *S. mutans* fue más susceptible a los extractos crudos de *Piper aduncum* (matico) que *S. sanguinis*, la fracción más activa frente *S. mutans* fue de una CMI de 0.08 mg/mL y *S. sanguinis* tuvo una CMI de 0.62 mg/mL, asimismo, esta fracción inhibe la adherencia dependiente de sacarosa de *S. mutans* y también redujo el nivel de producción de ácido por parte de esta bacteria. En conclusión, la actividad preferencial de los extractos de *P. aduncum* hacia *S. mutans* en comparación con *S. sanguinis*, además de su capacidad para inhibir la adherencia dependiente de sacarosa y reducir el nivel de producción de ácido por *S. mutans*, sugiere que esta planta puede tener un potencial para prevenir la caries dental. (20)

➤ **OLLUWASAYO E. NURENI O. VINESH J. EXAMEN QUÍMICO DEL ACEITE ESENCIAL DE TALLOS, RAÍCES Y CÁSCARAS DE FRUTOS DE NIGERIANO (*Citrus jambhiri*). UNIVERSIDAD DE PRETORIA. NIGERIA, 2019.**

El objetivo de la investigación fue evaluar los perfiles químicos de los aceites esenciales de la raíz, el tallo y la cáscara del fruto de *Citrus jambhiri*. En cuanto a la metodología, realizaron la destilación de las plantas pulverizadas un total de 500 gramos, para obtener aceites esenciales. Utilizaron cromatografía de gases para determinar la composición de los aceites extraídos. El aceite de tallo de *Citrus jambhiri* reveló la presencia de 66 compuestos, teniendo como componente principal el 3,4-dimetil-1,5-ciclooctadieno en un 13.43%. Por su parte, el aceite esencial de la raíz de *Citrus jambhiri* reveló la existencia de 56 componentes, como el geijereno en un 14,38% y el γ -terpineno en un 8.07%. El aceite de cáscara de fruta de *Citrus jambhiri* determinó la presencia de 25 compuestos, teniendo como constituyentes principales el óxido de cis-linalol en un 19.85%, el óxido de trans-linalol (furanoides) en un 14.86%, el terpinen-4-ol en un 7.37% y el limoneno en un porcentaje de 4.64%. Se llegó a la conclusión de que la composición química de los aceites esenciales varió según cada parte de la especie vegetal *Citrus jambhiri*. (21)

➤ **PINTO ALCON O. OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL A PARTIR DE CÁSCARAS DE LIMÓN PARA LA INDUSTRIA COSMÉTICA A NIVEL BENCH SCALE, UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS, LA PAZ - BOLIVIA, 2020.**

El objetivo de la investigación fue obtener el aceite esencial de la cáscara de limón del municipio de Alto Beni, provincia Caranavi, para su uso en la industria cosmética. El estudio se llevó a cabo con un diseño experimental. En cuanto a la metodología, se extrajo el aceite esencial por la metodología de destilación por arrastre de vapor con la ayuda del destilador FIGMAY a escala de laboratorio. Los resultados mostraron que la cáscara de limón tenía un 74.28% de humedad, 3,87% de cenizas, una densidad de 0.842 g/m³ y una densidad aparente de 0.0917 g/m³. A través del análisis estadístico ANOVA y gráficos de superficie de respuesta, se determinó que las mejores condiciones del proceso eran un tamaño de partícula de 16 cm y un tiempo de extracción 2.46 horas, bajo las cuales el modelo predecía un rendimiento teórico del aceite esencial del 0.2623%. Al efectuar la destilación en estas condiciones óptimas, se llegó a tener un rendimiento real de 0.2601%. También se evaluaron las propiedades físicas de aceite esencial, reportando una densidad relativa de 0.8566 y un índice de refracción de 1.467. En lo que respecta a las propiedades químicas, la cromatografía de gases y la espectrofotometría de masas dos principios activos importantes: limoneno (54.64) y terpineno (13.96%) ambos presentes en proporciones significativas en el aceite de limón. Por lo tanto, se concluye que se pudo obtener el aceite esencial de limón y se realizó su caracterización del dicho aceite, así como el cálculo del porcentaje de rendimiento. (22)

➤ **RIDZUAN P. M, BADHRULHISHAM AISYAH, KAUSAR A. EFECTO INHIBIDOR ANTIMICROBIANO *IN VITRO* DE LAS HOJAS DE *Piper aduncum*, EXTRACTOS SOBRE BACTERIAS Y HONGOS. UNIVERSIDAD SULTAN ZAINAL. MALASIA, 2021.**

El objetivo de esta investigación fue determinar *in vitro* el efecto antimicrobiano de *Piper aduncum* contra bacterias y hongos patógenos. En la metodología se utilizaron extractos de *Piper aduncum* a diferentes concentraciones para evaluar los efectos sobre bacterias y hongos. Se usaron dos solventes diferentes en el proceso de extracción y las diferencias entre los efectos de los productos también se compararon. Las zonas de inhibición se observaron después de 24 horas de incubación. La evaluación de las actividades antimicrobianas y anti fúngica se realizó introduciendo las concentraciones del extracto en placas de

Petri que contienen agar recién inoculado a 37°C durante 24 horas. Se midieron las zonas de inhibición para determinar las actividades antibacteriana y antifúngica. En los resultados ambos extractos de *Piper aduncum* (500mg/mL) muestran la mayor zona de inhibición en comparación a las concentraciones de 250 mg/mL, 125 mg/mL, 62.5 mg/mL y 31,25 mg/mL. Sin embargo, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis* y *Cándida tropicalis* mostró insensibilidad al extracto de n-hexano mientras que *Bacilo subtilis* es resistente hacia el extracto de diclorometano (DCM). En conclusión, las concentraciones más altas de ambos solventes son las más efectivas contra las bacterias gramnegativas, grampositivas y actividad antifúngica, donde el más potente es el extracto de DCM de *Piper aduncum*. (23)

➤ **BRITOS MARIA, et al. ACEITES ESENCIALES CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA: POSIBLE APLICACIÓN Y ADMINISTRACIÓN EN ODONTOLOGÍA. ARGENTINA, 2021.**

El objetivo de esta investigación fue estudiar la propiedad bactericida de los aceites esenciales de diferentes especies de cítricos sobre cepas de *Streptococcus* y su posible administración en odontología. El estudio se llevó a cabo a través de una revisión bibliográfica. En los resultados se verificó que varias especies de cítricos como la mandarina, limón o naranja tienen la capacidad de detener el crecimiento de bacterias y en unos cuantos casos matar a bacterias Gam + y Gram -, a través del mecanismo de evitar la adhesión bacteriana al actuar sobre las proteínas que forman parte de la superficie celular. El estudio concluye que, de acuerdo con la información recopilada, el uso de estos aceites esenciales de los cítricos, por medio de la biotecnología sería beneficioso y contribuiría al manejo de la salud bucal sin alterar la microflora oral normal del ser humano. (10)

➤ **GUALE CABAL, A. MIELES BURGOS, J. APLICACIÓN DE ACEITES ESENCIALES DE CORTEZAS DE LIMÓN SUTIL (*Citrus Aurantifolia Swingle*) Y RUGOSO (*Citrus Jambhiri*) COMO INHIBIDORES DE CRECIMIENTO PATÓGENOS *E. COLI* Y *SALMONELLA*. UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ. ECUADOR, 2020.**

La investigación tuvo como objetivo evaluar el rendimiento de 2 métodos de extracción de aceite esencial de cáscara de limón, específicamente de las variedades sutil (*Citrus Aurantifolia*) y rugoso (*Citrus Jambhiri*). En el enfoque

metodológico, se determinó el porcentaje de rendimiento del aceite esencial, siendo del 0.68% para el limón sutil y 0.76% para el limón rugoso. También se analizaron las características fisicoquímicas de los aceites esenciales, incluyendo la densidad (0.85 para el limón sutil y 0.82 para el limón rugoso), el índice de refracción (1.4731 para el limón sutil y 1.4673) para el limón rugoso), también se realizó exámenes para determinar la solubilidad de los aceites esenciales donde se demostró que son solubles en etanol. Se determinó el índice de acidez que fue de 0.1751 mgKOH/g para limón sutil y 0.2802mgKOH/g para el limón rugoso. Además, se comparó el poder inhibitorio de los aceites frente las bacterias *E.coli* y *Salmonella spp.* Para evaluar la actividad antibacteriana, se utilizó el método de difusión de discos sobre agar, aplicando concentraciones del 60% y 90 % del aceite esencial, utilizando tween 80 para la dilución correspondiente. Se determinó que, las concentraciones que mostraron mayor efecto inhibitorio fueron del 60% para ambas variedades de aceites, con un poder de inhibición de 14.33 mm en el limón sutil y 12.67 mm en el limón rugoso contra *Salmonella spp*, mientras que las respuestas inhibitorias frente a *E. coli* fueron de 15.00 mm en el limón sutil y 12.44 en el limón rugoso. En conclusión, se dispuso que la destilación por arrastre de vapor de agua fue el método que presentó un mayor rendimiento en comparación con el método Soxhlet. (24)

➤ **MONTESDEOCA VIQUE, L. DISEÑO, FORMULACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE UN DENTÍFRICO ANTICARIOGÉNICO A BASE DE CANNABIDIOL. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. ECUADOR – 2024.**

El objetivo de esta investigación fue diseñar, formular y controlar la calidad de un dentífrico anticariogénico con base en Cannabidiol (CBD). La metodología comenzó con una revisión bibliográfica sobre la comprobada actividad bactericida de CBD frente a cepas de *Streptococcus mutans*. Luego se validó experimentalmente su actividad antibacteriana mediante el Método Kirby-Bauer. A partir de estos resultados, se realizaron pruebas preliminares de formulación y se aplicó un (DOE) Diseño Experimental de mezclas, donde se variaron tres tipos de agentes viscosantes (carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa y goma xanthan). Se dispuso que la combinación de 3 agentes viscosantes no es factible debido a desestabilizaciones físicas, sin embargo, la mezcla de 1 o 2 agentes resultó en una formulación estable con la apariencia deseada. En conclusión, se verificó que la calidad del producto terminado cumplía con los valores

establecidos por las normativas actuales, lo que asegura la seguridad y eficacia del dentífrico elaborado. (25)

➤ **GUZMÁN SUAREZ, M. LA CARIES DENTAL EN RELACIÓN CON EL PH SALIVAL, DIETA E HIGIENE DENTAL. UNIVERSIDAD PRIVADA ABIERTA LATINOAMERICANA SEDE COCHABAMBA. 2019.**

El objetivo de esta investigación fue analizar la relación entre la caries dental y factores como el pH salival, la dieta y la higiene bucodental en pacientes que asisten a la clínica odontológica de la universidad privada abierta latinoamericana sede Cochabamba. Los resultados mostraron que el 70 % de los casos presentó un pH salival ácido, una dieta alta de 20- 15 carbohidratos fermentables en (100 %) y una frecuencia de higiene bucodental de 2 veces al día en el 70 % de los pacientes. En el grupo control, el 75% mantuvo un pH salival neutro, una dieta con 20-15 carbohidratos fermentables en el 95 % de los casos, dentro de la frecuencia de una higiene bucodental de dos veces al día en el 65%. Finalmente se concluyó que existe relación directa entre la caries dental y el pH salival ácido, una higiene bucodental deficiente y una dieta rica en carbohidratos fermentables, especialmente en un entorno donde el consumo de gaseosa es elevado. (26)

➤ **ITURRIAGA DÍAZ, G. BUSTOS GÓMEZ, C. EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE UN GEL MUCOADHESIVO FORMULADO CON EXTRACTOS DE *S. aromaticum* y *H. longipes*. UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO. 2018.**

EL objetivo de este trabajo de investigación fue formular un gel mucoadhesivo estable utilizando extractos de *S. aromaticum* y *H. longipes* para el tratamiento de infecciones bucales. En cuanto a la metodología, se obtuvieron los extractos etanólicos de las especies vegetales recolectadas, que luego se incorporaron en cuatro bases de gel (α , β , γ , δ). Para su formulación se utilizaron insumos como carbopol 940, Carboximetilcelulosa, Polietilenglicol, trietanolamina y otros excipientes. Posterior a las formulaciones, estas fueron sometidas a diversas pruebas fisicoquímicas para evaluar su estabilidad. Tras los ensayos de estabilidad térmica y de congelación/descongelación, se dispuso que todas las formulaciones conservaron sus propiedades como: homogeneidad, consistencia y pH. Por lo tanto, se llegó a la conclusión que las cuatro formulaciones son adecuadas para el tratamiento de infecciones bucales, ya que mostraron un alto

nivel de mucoadhesión y estabilidad en sus propiedades fisicoquímicas, lo que garantiza la adecuada conservación y liberación de los principios activos. (27)

- **LÓPEZ GAMBOA, Y. ARTEAGA YÁNEZ, Y. ORTEGA GUEVARA, N. FORMULACIÓN DE UN GEL DENTÍFRICO DE ALOE VERA L. CON PROPIEDADES MEDICINALES. UNIVERSIDAD METROPOLITANA DE ECUADOR, 2023.**

El objetivo de esta investigación fue formular un gel dentífrico a base de *aloe vera L.* con propiedades medicinales, a través de un estudio experimental realizado entre septiembre del 2020 a junio del 2021. En cuanto a la metodología, se desarrolló un gel dentífrico con propiedades curativas utilizando *Aloe Vera L.*, y una vez obtenido el gel, se valoró su compatibilidad con los demás insumos de la formulación. Posteriormente, se analizaron su estabilidad fisicoquímica y microbiológica durante un período de 60 días. El muestreo para los ensayos se realizó de manera aleatoria y se calculó la varianza entre las muestras en cada prueba. Los resultados demostraron que el gel de *Aloe Vera L.* desarrollado es compatible con los demás insumos de la fórmula y cumple con los estándares de estabilidad fisicoquímica y microbiológica en el tiempo evaluado, establecidos por las normas cubanas para la elaboración de productos naturales. (28)

- **ZANOLI BERNUCI KARINE, IWANGA CAMILA, FERNÁNDEZ ANDRADE CARLA MARÍA. EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y DE LAS ACTIVIDADES ANTILEISHMANIALES Y ANTITUBERCULOSAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE ESPECIES DE PIPER. UNIVERSIDAD ESTATAL DE MARINGÁ. BRASIL, 2016.**

El objetivo que tuvo la investigación fue evaluar la composición química de los aceites esenciales de las especies de Piper. En cuanto a la metodología, se aplicó la técnica de hidrodestilación para obtener los aceites esenciales de las hojas frescas de *Piper arboretum*, *Piper rivinoides* y *Piper aduncum*, el análisis químico se realizó mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, donde se logró determinar 68 compuestos. El análisis de los componentes principales reveló una diversidad química entre las tres especies de Piper, con un predominio de los compuestos sesquiterpénicos en la mayoría de las especies estudiadas. Dichas especies presentaron una actividad moderada frente a *Mycobacterium tuberculosis*, con una concentración mínima

inhibitoria de 125 µg/mL. En conclusión, estos hallazgos son significativos y apuntan a su posible uso de los aceites esenciales con fines terapéuticos. (29)

- **VALAREZO VALDÉZ, B. CARRIÓN CHAMBA, D. COMPOSICIÓN QUÍMICA, PROPIEDADES FÍSICAS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN. UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA. ECUADOR, 2019.**

El objetivo de la investigación fue evaluar la composición química, las propiedades físicas y determinar la actividad biológica del aceite esencial de limón. En la metodología, el aceite esencial fue extraído con la técnica de destilación por arrastre de vapor y su composición química se analizó utilizando cromatografía de gases y espectrometría de masas. La actividad biológica se evaluó mediante el método de microdilución en caldo. En cuanto a los resultados, se identificaron 23 compuestos, siendo los más abundantes el limoneno en un 57.96%, γ -terpineno con un 10.07%, el α -terpineol con un 9.35%, el β -pineno con un 6% y el terpinoleno con un 2,97%. El aceite esencial presentó una densidad de 0,8695 g/mL, un índice de refracción de 1,477 y una actividad óptica de 46,46°. No se observó potencial antibacteriano frente a los microorganismos evaluados. (30)

2.2.2. Antecedentes nacionales

- **GARCÍA SANDOVAL DEYSI MARILU, LLANOS ESCOBAR ANA ROSA, EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Piper aduncum* L. (MATICO) SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *IN VITRO*. UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA. LIMA, 2023.**

El objetivo de la investigación fue demostrar la capacidad inhibitoria que posee el extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum* L. sobre las cepas de *S. mutans* ATCC 25175, para lo cual la extracción se realizó a través del método de maceración de un kilo y medio de hojas de la especie vegetal, para determinar el efecto inhibitorio se aplicó la técnica de difusión en pozo. En los resultados se halló un halo de inhibición promedio de 11,70 + 0,40 mm a una concentración de 50 mg/ml del extracto metanólico de matico; un halo de inhibición de 13,25 + 0,39 mm promedio a una concentración de 75mg/ml y un halo de inhibición de 15,41 + 0,42mm a una concentración de 100 mg/ml; para el control positivo se halló un halo de inhibición de 24,62 mm y 6,30 + 0,52mm fue el halo del control negativo. A comparación de las distintas concentraciones del extracto

metanólico quien presentó el más alto efecto inhibitorio fue el control positivo. Se llegó a la conclusión que se pudo demostrar la capacidad inhibitoria del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* "Matico" sobre la cepa de *S. mutans* ATCC 25175 a través de las pruebas realizadas como el análisis estadístico y la escala de Durafourd. (31)

➤ **FERNÁNDEZ ROSILLO FRANK, RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN POR HIDRODESTILACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Piper aduncum L.* (MATICO) MEDIANTE UN MODELO CINÉTICO, Jaén, 2024.**

El objetivo de la investigación fue estimar el rendimiento de extracción por hidrodestilación de aceite esencial de *Piper aduncum L.* (matico) mediante un modelo cinético. En la metodología, primeramente, se procesó el material vegetal el cual consiste en recolectar, secar bajo sombra y triturar hojas de matico, luego se extrajo el aceite esencial por hidrodestilación mediante dos equipos clewenger bajo cuatro escenarios y finalmente se modeló la cinética de extracción por hidrodestilación del matico. El rendimiento del aceite esencial de matico en los cuatro escenarios planteados se ajustó al modelo matemático de la cinética sigmoideal. Por tanto, los modelos determinados brindaron una evolución cualitativa y aproximada del comportamiento de la cinética de extracción y del rendimiento del aceite esencial de matico. (32)

➤ **ROMERO CASTILLO YEIMY JANNY, EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus Limón* (LIMON) al 75% y 100% SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Streptococcus sanguis* ATCC 10556, TRUJILLO. UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES. 2020**

El objetivo del estudio fue comparar la sensibilidad bacteriana de las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Streptococcus sanguis* ATCC 10556 del aceite esencial de *Citrus limón*. En la metodología, se preparó dos concentraciones del aceite esencial, al 75% y al 100%, luego se activaron las cepas en caldo (BHI) una cantidad de 30 placas Petri. El método que se empleó para determinar la actividad antibacteriana fue por el método de Kirby Bauer en agar Mueller Hinton, 10 repeticiones por cada concentración. Se usó la clorhexidina al 0,12% como control positivo y el SSEF/TWEEN 80 como control negativo. En los resultados, se obtuvo un halo de inhibición promedio de 17.4 mm a una concentración del 75% y 28.3 mm a una concentración del 100 %, el halo de inhibición para el control positivo fue de 24.5 mm y para el control

negativo fue de 0, frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, frente a la cepa de *Streptococcus sanguis* ATCC 10556 el halo de inhibición promedio al 75% fue de 20 mm y al 100% fue de 30.8 mm, para el control positivo fue de 15.4 mm y para el control negativo fue de 0. En la prueba ANOVA, se obtuvo un $p < 0,05$, lo que indica que existe una diferencia en las concentraciones y la prueba de DUNCAN, indica que la concentración al 100% tiene mayor efecto antibacteriano. Se llegó a la conclusión que la concentración al 100% del aceite esencial de *Citrus limón* presenta efecto antibacteriano frente a las cepas de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguis*, por lo que se recomienda como un potencial terapéutico para la profilaxis de la caries dental. (33)

- **SARAVIA SALAS KELY GABRIELA, VARGAS ARIZAPANA, ANGEL AUGUSTO, “EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE MATICO (*Piper aduncum*) POR ARRASTRE DE VAPOR Y EVALUACIÓN *IN VITRO* DE SU EFECTO FUNGICIDA EN *Colletotrichum gloeosporioides*”. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN AREQUIPA, 2023.**

El objetivo de la investigación fue la extracción de aceite esencial de matico (*Piper aduncum*) por arrastre de vapor y evaluación *IN VITRO* de su efecto fungicida en *Colletotrichum Gloeosporioides*. En la metodología, el aceite esencial se extrajo por 120 minutos donde alcanzo un rendimiento de 1.30%, se determinaron los parámetros de densidad (0,9207 g/ml), índice de refracción (1,4818 a 20°C), rotación óptica (72°) e índice de acidez (1.4mg KOH/ 1g). La identificación de los componentes activos del aceite esencial de *Piper Aduncum* fueron analizados por GC-MS y los principales componentes activos hallados fueron el: eucaliptol (18.56%), alcanfor (14.36%) e isómero del canfeno (14.19%). El hongo *Colletotrichum Gloeosporioides* se aisló de la papaya (*Carica Papaya*) y se identificó taxonómicamente el hongo en el HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA). Por último, se evaluó el efecto fungicida por el método de difusión en pocillos (método de Kirby Bauer modificado), en concentraciones de 25, 50 ,75 y 100% de aceite esencial sobre *Colletotrichum Gloeosporioides* diluido en alcohol de 96° y como tratamiento control se utilizaron: sulfato de cobre pentahidratado (fungicida comercial) y Amistar 50 WG (fungicida específico). En los resultados se determinó que una concentración del 100% fue el que más significancia tuvo en el efecto inhibitorio con eficiencia de 143.75% y 98.17% respecto a cada tratamiento control. (34)

- **OLANO TIRADO RICHARD, VALORIZACIÓN DE ACEITE VEGETAL UTILIZADO PARA LA ELABORACIÓN DE JABÓN ANTIBACTERIANO CON ESENCIA DE MATICO (*Piper aduncum*) PACHACAMAC, UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO - LIMA, 2023.**

La investigación tuvo como objetivo evaluar la valorización de aceite vegetal usado para la elaboración de jabón antibacteriano con esencia de matico (*Piper aduncum*). En la metodología primeramente se realizó la recolección del aceite vegetal usado posteriormente, se extrajo la esencia de matico con la técnica de destilación por arrastre a vapor llegando a obtener 70 mL de aceite esencial, posteriormente se determinó las propiedades fisicoquímicas, luego se procedió a la elaboración de jabones con dosis de 2 mL, 6 mL y 15 mL de esencia de matico. Se llevaron a cabo pruebas de actividad antibacteriana en superficie viva utilizando cepas de *Staphylococcus aureus*. Los resultados demostraron que con la valorización del aceite vegetal usado es posible la elaboración de jabón, asimismo se observó la eficiencia antibacteriana contra el *Staphylococcus aureus*. En conclusión, la investigación demostró que es viable la valorización del aceite vegetal usado al elaborar jabón antibacteriano efectivo frente a la bacteria *Staphylococcus aureus*, representando una alternativa en el tratamiento de aceites vegetales usados, que pueden ser indudablemente nocivos al medio ambiente. (35)

- **HUARACCA VILCA, V. ARCE SANTOS, D. COMPARACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *Piper aduncum* (MATICO) EN MATERIA SECA Y FRESCA FRENTE AL *Streptococcus mutans*, PUNO. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO. 2024.**

El objetivo de la investigación fue comparar *in vitro* el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Piper aduncum* en materia seca y fresca frente a *S. mutans*. El estudio fue explicativo y de diseño experimental. La actividad antibacteriana se determinó por Kirby Bauer, se utilizó la técnica de observación directa para la evaluación de halos de inhibición. En cuanto a los resultados, se observó que el mayor efecto antibacteriano tuvo el extracto etanólico de *P. aduncum* seco al 100% a las 24 horas, con 16.63 mm en comparación a las 48 horas, con 16.29 mm. Para el extracto etanólico de Matico fresco, la mayor actividad lo registró al 100% a las 24 horas, con 13.94 mm en comparación a las 48 horas, con 13.54 mm. En conclusión, al comparar ambos extractos etanólicos de *Piper aduncum*,

resultó mayor efecto antibacteriano el extracto etanólico en materia seca frente a *Streptococcus mutans*. (36)

➤ **CORREA PALACIOS, K. DÍAZ MEDINA, S. EVALUACIÓN DE LA ACEPTABILIDAD DE UNA BEBIDA A BASE DE MATICO (*Piper aduncum*) Y MANZANILLA (*Chamaemelum nobile*), CHIMBOTE – 2021.**

El objetivo de la investigación fue analizar la aceptación de una bebida elaborada con matico y manzanilla. En cuanto a la metodología, se caracterizaron las materias primas mediante la recolección de ambas especies vegetales y se determinaron sus propiedades fisicoquímicas: el porcentaje de humedad fue de 66.1% para matico y 76.3% para manzanilla, el porcentaje de proteínas fue de 0.62% para matico y 0.56% para manzanilla, el porcentaje de ceniza fue de 21.66% y 10.91% para manzanilla y el porcentaje de grasas fue de 2.21% para matico y 2.56% para manzanilla. Posteriormente, se desarrolló un proceso productivo de la bebida con diferentes concentraciones de las especies vegetales, se desarrollaron siete formulaciones, siendo la formulación 6 la que obtuvo una mejor aceptación sensorial, destacando su sabor. En conclusión, el análisis estadístico indicó que es viable elaborar una bebida con un nivel aceptable para los consumidores. (37)

➤ **JANAMPA TORRES R. LOO GUILLEN O. EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO BACTERICIDA DEL *Piper aduncum* “MATICO” FRENTE A *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA1706 Y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR. Lima, Perú – 2023.**

La investigación tuvo como objetivo diagnosticar el efecto bactericida *in vitro* del *Piper aduncum* frente a *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*, así como identificar sus grupos funcionales químicos y la concentración mínima inhibitoria (CMI). En cuanto a la metodología, se trató de un estudio experimental *in vitro*, prospectivo y longitudinal, utilizando extractos hidroalcohólicos de tallos y hojas de *Piper aduncum* proporcionados por el Instituto Nacional de Salud. Se realizaron ensayos de solubilidad y un screening fitoquímico con reactivos específicos. Asimismo, mediante dilución seriada de las muestras frente a los agentes bacterianos y el método turbidimétrico, se determinó la concentración mínima inhibitoria para cada microorganismo patógeno. Los resultados del screening fitoquímico revelaron la presencia de metabolitos secundarios como glúcidos, carbohidratos, compuestos grasos, triterpenos, esteroides, catequinas, fenoles, taninos, alcaloides, flavonoides, aldehídos y cetonas. Por otro lado, el

método turbidimétrico mostró que el *Piper aduncum* tenía una Concentración Mínima Inhibitoria de 0.03g/ml contra *Staphylococcus aureus* en tallos y 0.003g/ml en hojas, certificando una mayor eficacia a menor concentración. Sin embargo, no se contempló efecto en las muestras expuestas a *Klebsiella pneumoniae* con las diluciones utilizadas. Se concluyó que el *Piper aduncum* mostró efecto bactericida frente a *Staphylococcus aureus* con una Concentración Mínima Inhibitoria de 0.003 g/mL y un CMI de 0.03 g/mL en tallos, mientras que no se descartó la posibilidad de un efecto sobre *Klebsiella pneumoniae* a concentraciones superiores a 0.4g/mL en hojas y 0.25 g/mL en tallos de *Piper aduncum*. (38)

- **MOROCCO QUISPE, S. CARACTERIZACIÓN MICRO-HISTOLÓGICO, FÍSICO Y QUÍMICO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE MATICO (*Piper aduncum*), EXTRAÍDO POR ARRASTRE DE VAPOR EN EQUIPO MODULAR. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO. PUNO, 2017.**

El objetivo de esta investigación fue realizar la caracterización micro-histológica, físico y químico del aceite esencial de las hojas de *Piper aduncum*. La especie vegetal fue recolectada de Ollachea anexo Chuany, de la provincia de Carabaya. En cuanto a las propiedades físicas, se tuvo una densidad de 0.9278 g/mL a una temperatura de 20°C, una viscosidad aparente de 4.69 cP a 4.96 cP, un índice de refracción de 1.4872, un pH de 5.15. Sus componentes aromáticos se identificaron por cromatografía de gases / espectrometría de masas, donde los más abundantes fueron: Arasone, 1,6-ciclododecadieno, 1-metil-5-metileno 8. Para la extracción del aceite esencial se requirió 4.5 kg de muestra para obtener 25mL de aceite, dicho procedimiento por arrastre de vapor demoró 2 horas. (39)

- **INGAROCA TEJEDA, S. COMPOSICIÓN QUÍMICA, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y EFECTO FUNGISTÁTICO SOBRE CANDIDA ALBICANS DEL ACEITE ESENCIAL DE *Piper adundum* L. "MATICO". UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS. Lima, Perú – 2018.**

El objetivo del estudio fue analizar la composición química, la actividad antioxidante y el efecto fungistático del aceite esencial extraído de las hojas de *Piper aduncum* L. "matico" frente a *Cándida albicans* ATCC 10231. La investigación siguió un enfoque cuantitativo y se basó en un diseño experimental. En cuanto a la metodología, el aceite esencial se obtuvo mediante destilación por arrastre de vapor y su composición química se determinó utilizando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM). Para

evaluar el efecto fungistático, se empleó el método de microdilución colorimétrica en caldo. En cuanto a los resultados, se identificaron 35 compuestos químicos, de los cuales 8 representan el 76.53% del área total del cromatograma. Los principales componentes volátiles fueron fenilpropanoides (1, 2, 4-trimetoxi-5-(1-propenil)- benceno (39,32 %) y metileugenol (12,85 %)), hidrocarburos sesquiterpenoides (germacreno D (7,52 %), biciclogermacreno (5,88 %), β -cariofileno (2,82 %) y δ -cadineno (2,81 %)), un hidrocarburo monoterpenoide (β -ocimeno (2,34 %)) y un monoterpenoide oxigenado (4,7,7-trimetilbicyclo [2.2.1] (2,99 %)). Se concluyó que, aunque la actividad antioxidante y el efecto fungistático del aceite esencial de *Piper aduncum* L. fueron bajos, su alto contenido de fenilpropanoides lo convierte en un prometedor candidato para futuras investigaciones. (40)

2.2.3. Antecedentes locales

- **AGUILAR ANCORI ELSA GLADYS, AGUILAR ANCORI KATYA VALENTINA, ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA FRENTE A *Streptococcus mutans* DE ACEITES ESENCIALES DE CINCO PLANTAS ALTO ANDINAS, CUSCO, 2018.**

El objetivo de la investigación fue informar la propiedad antibacteriana de cinco aceites esenciales obtenidas de plantas altoandinas nativas de Perú frente a la cepa de *S. mutans*. En la metodología, se compraron del laboratorio Pukllay los cinco aceites esenciales (*Cymbopogon citratus*, *Piper elongatum*, *Minthostachys setosa*, *Schinus molle* y *Luma chequen*). Se empleó el equipo de cromatografía de gases para determinar la composición química de 100 μ L de muestra y el método de difusión en disco en agar para determinar la actividad antibacteriana. En los resultados del análisis químico se obtuvo en los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus*, *Piper elongatum*, *Minthostachys setosa*, *Schinus molle* y *Luma chequen* los componentes de mayor cantidad Citral (40,2%), α -phellandrene (23,8%), eucalyptol (17,3%), α -pinene (51,1%) y menthone (21,9%), asimismo, a una concentración de 15 y 20% los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus* y *Piper elongatum* presentaron la mayor actividad antibacteriana y los halos de inhibición que se obtuvieron fue de 15,67 mm de *Cymbopogon citratus* y 10 mm de *Piper elongatum*. Se llegó a la conclusión que se dio a conocer la actividad antibacteriana de los AE elegidos frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 35668. (41)

- **TUPAYACHI PALOMINO A. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y SU EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus limón* (L) Osbeck SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona Aeruginosa* Y *Escherichia coli*. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO. Perú, 2024.**

Esta investigación tuvo como objetivo estipular la composición química y el efecto antibacteriano sobre tres bacterias patógenas: *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 9027. En cuanto a la metodología, se obtuvo el aceite esencial de la cáscara de *Citrus limón* (L) Osbeck mediante hidroddestilación utilizando una trampa de Clevenger. En los resultados, respecto a las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial se mostró ser soluble en disolventes ligeramente polares, con una densidad a 0.8707 g/m a 20°C, un índice de refracción de 1.4783 y una rotación óptica 59.3 grados/dm/g/mL, el índice de saponificación fue menor a 0.01 mg KOH/g de muestra y el índice de acidez fue 7.55 mg KOH/g de muestra. La cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas distinguió 28 componentes que representaron 96.13% del total de aceites volátiles, siendo el limoneno el componente predominante, seguido del γ -terpineno (12.41%), β -pineno (12.13%) y p-cimeno (10.65%). Respecto a los efectos antimicrobianos, se mostró que el aceite esencial tenía una Concentración Mínima Bactericida para *Escherichia coli* ATCC 8739 a una dilución de 1/2 (855g/mL) a las 24 y 48 horas, para *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 a una dilución de 1/4 (285 mg/mL) también a las 24 y 48 horas y para a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, a una dilución de 1/4 (855g/mL) en las mismas condiciones temporales. En conclusión, se determinó que el aceite esencial de *Citrus limón* (L) Osbeck tiene propiedades antimicrobianas significativas. (42)

- **BACA ZANS LISSETH KARINA, YABAR FLUKER ADRIANA EFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DE LOS ACEITES ESENCIALES DE: *Foeniculum vulgare* (HINOJO), *Cimbopogon citrus* (HIERBA LUISA), *Origanum vulgare* (ORÉGANO), *Citrus aurantifolia swingle* (LIMÓN) Y *Citrus sinesis* (NARANJA), FRENTE A CEPAS ESTANDARIZADAS DE *Streptococcus mutans*, Cusco 2016.**

El objetivo de la investigación fue analizar el efecto antibacteriano sobre cepas estandarizadas de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175, del Gluconato de Clorhexidina al 0,12% frente a los aceites esenciales de *Citrus aurantifolia*

swingle (Limón), *Citrus sinensis* (Naranja), *Foeniculum Vulgare* (Hinojo), *Cimnopogon citrus* (Hierba Luisa) y *Origanum Vulgare* (Orégano). El método utilizado para la obtención de los aceites esenciales fue a través de destilación por arrastre de vapor de agua. Para el estudio microbiológico se empleó el método de Kirby Bauer donde se colocó 10 uL del aceite esencial a una concentración del 100% y del patrón control sobre la cepa de *Streptococcus mutans*, Para evaluar la sensibilidad bacteriana se midió el diámetro de los halos de inhibición a las 24 horas. En los resultados se obtuvo a una concentración del 100% de *Cimnopogon Citrus* (Hierba Luisa) un halo de inhibición de 32.967 mm. Se llegó a la conclusión que los aceites esenciales de *Foeniculum Vulgare* (Hinojo), *Cimnopogon citrus* (Hierba Luisa), *Origanum Vulgare* (Orégano), *Citrus sinensis* (Naranja) presentaron mayor efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175, a diferencia del aceite esencial *Citrus aurantifolia swingle* (Limón) el cual no presentó efecto antibacteriano. (43)

➤ **VERA FERCHAU KARINA, VILLENA TEJADA MAGALY, VERA FERCHAU INGRID, CARDONA RIVERO ANAHI, ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y CITOTOXICIDAD DE CINCO ESPECIES VEGETALES DE LA ZONA ALTOANDINA Y AMAZÓNICA DE LA REGIÓN DEL CUSCO, 2021.**

El objetivo de la investigación fue analizar el efecto antibacteriano y la citotoxicidad de las especies vegetales *Piper elongatum* M. Vahl (Matico), *Muehlenbeckia volcánica* (Bentham) Endlicher (Mullaca), *Minthostachys glabrescens* (Bentham) Epling (Muña), *Acicarpa tribuloides* Jussieu (Estrella Kisca), *Gamochoeta spicata* (Queto-Queto), de la región Cusco, Perú, exactamente de las zonas altoandinas y amazónicas. La investigación tuvo un diseño descriptivo y transversal. En la metodología, a través de la técnica de maceración se obtuvieron los extractos etanólicos y por el método de macrodilución se determinó la CMI. El grado de toxicidad se determinó por el método de *Artemia salina*. En los resultados se observó que las cepas de *S. aureus*, *E. coli* y *S. pneumoniae* son sensibles frente a las especies vegetales Queto-Queto y la Mullaca, mientras que las cepas de *S. pneumoniae* y *S. aureus* son sensibles al matico, respecto a las cepas de *S. typhimurium* y *E. coli* se observó que son sensibles frente a Estrella Kisca y Muña. En la prueba de citotoxicidad se determinó que los extractos de las especies vegetales muy tóxicas son de Estrella Kisca y Queto – Queto, mientras que los extractos de las especies vegetales Muña, Mullaca y Matico se consideraron moderadamente tóxicos con relación a la CL50 de 100.092, 415.451 y 158.006 respectivamente.

Se llegó a la conclusión que las especies vegetales estudiadas demostraron actividad antibacteriana y distintos grados de toxicidad. (44)

- **URRUNAGA ORMACHEA, M. DEL CARPIO JIMÉNEZ, C. GUTIERREZ CHAVEZ, G. TOMAYLLA CRUZ, C. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus jambhiri* (Limón rugoso). UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO, 2022.**

El propósito de esta investigación fue extraer el aceite esencial de la cáscara de *Citrus jambhiri* utilizando el método de destilación por arrastre de vapor y analizar sus componentes fundamentales mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas. Además, se determinaron las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del aceite, junto con su capacidad antioxidante. Los resultados mostraron que el rendimiento del aceite de *Citrus jambhiri* fue del 0,72%. En cuanto a su composición, sobresalen los monoterpenos hidrocarbonados en un 76.5%, siendo los más abundantes el limoneno (37,7%), el β -pineno (25,1%) y el E- β -ocimeno (5,6%), los monoterpenos oxigenados constituyen un 15%, siendo los abundantes el citronelal (4,9%) y el linalool (4,1%), también se detectaron sesquiterpenos hidrocarbonados, como el β -cariofileno (2,8%). Entre las propiedades fisicoquímicas, se registró una densidad a 20°C de 0,844 g/mL \pm 0,02; un índice de refracción a 20°C de 1,472 \pm 0,01 y un pH de 4,7 \pm 0,01. El valor de IC50 para la actividad antioxidante del aceite esencial de *Citrus jambhiri* fue de 99,8 \pm 5,6 mg/mL. En conclusión, el aceite esencial de *Citrus jambhiri* muestra un potencial prometedor como antioxidante. (45)

- **RIQUELME QUISPE LM. EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Syzygium aromaticum*, *Minthostachys mollis* y *Jungia rugosa* Less SOBRE EL *Streptococcus mutans* ATCC 25175. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO, 2023**

El objetivo de este estudio fue comparar el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de *Syzygium aromaticum* (clavo de olor), *Minthostachys mollis* (muña) y *Jungia rugosa* Less. (matico) sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175. El estudio fue realizado *in vitro*, de diseño experimental, comparativo y de corte longitudinal. Los aceites en estudio se prepararon a las concentraciones de 50%, 75% y 100% con Tween 80. La evaluación del efecto antibacteriano se realizó por el método de Kirby Bauer, donde se realizó 10 repeticiones por cada grupo experimental, se tomó como control positivo a la clorhexidina y al Tween

80 como control negativo. La técnica utilizada fue la observación y medición de los halos de inhibición que se realizó a las 24 y 48 horas luego de la incubación. Como resultado se obtuvo mayor efecto de los aceites esenciales a las 48 horas, el aceite esencial de *Minthostachys mollis* mostró un halo de inhibición de 18,87mm, 17,37mm y 7,79mm a las concentraciones de 50%, 75% y 100%; el aceite esencial de *Jungia rugosa* Less mostró halos de inhibición 16,65mm, 15,95mm y 13mm a las concentraciones de 75%, 50% y 100% respectivamente; por último, el aceites esencial de *Syzygium aromaticum* mostró halos de inhibición de 12,31mm, 11,88mm y 10,59mm a las concentraciones de 75%, 100% y 50% respectivamente. En conclusión, el aceite esencial de *Minthostachys mollis* a la concentración de 50% y *Jungia rugosa* Less a la concentración de 75% mostraron los mayores efectos antibacterianos sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. (46)

2.3. Estado del arte

En la presente investigación se hará énfasis en dos plantas medicinales que son el “Matico” y el “Limón Risso”. La evidencia científica y los trabajos de investigación muestran que los extractos, aceites esenciales y compuestos aislados del “matico” (*Piper aduncum*) han exhibido actividades biológicas notables, como fungicida e insecticida, antibacteriana, antileishmanial, antioxidante, citotóxica/antitumoral, larvicida, antiagregante plaquetario, moluscoide y antiviral. En cuanto al “Limón”, los últimos estudios muestran que su aceite esencial podría tener una actividad antimicrobiana prometedora contra los colonizadores dentales y podría ser útil para prevenir la aparición y progresión de enfermedades orales. (23)

En el año 2016, Froés Magalhães Chaiana, evaluó la actividad antibacteriana de los extractos de hojas de *Piper aduncum* (matico) frente a las bacterias cariogénicas (*Streptococcus mutans*) y asociado a la salud (*Streptococcus sanguinis*) mediante el método de microdilución en caldo, donde *S. mutans* fue más susceptible a los extractos crudos de *Piper aduncum* (matico) que *S. sanguinis*, la fracción más activa frente *S. mutans* fue de una CMI de 0.08 mg/mL y *S. sanguinis* tuvo una CMI de 0.62 mg/mL. (20)

En el año 2021, Sin Cynthia y Britos María en Argentina, realizaron un estudio sobre la acción antibacteriana de los aceites esenciales provenientes de los cítricos como naranja, mandarina y limón y sus posibles aplicaciones en odontología, en el cual presentaron actividad bacteriostática y en algunos casos, bactericida frente a bacterias Gram + y Gram -. (10)

En la región de Cusco, en el 2018, Aguilar Ancori evaluó la actividad antibacteriana de cinco aceites esenciales de plantas nativas altoandinas de Perú (*Cymbopogon citratus*, *Piper elongatum* “matico”, *Minthostachys setosa*, *Schinus molle* y *Luma chequen*) frente a *S. mutans*, a través del método de disco difusión en agar, donde el AE de *Piper elongatum* a una concentración del 15% presento un halo de inhibición de 15,67 mm y al 20% el halo de inhibición fue de 10 mm frente a la cepa de *Streptococcus mutans*. (41)

2.4. Bases teórico científicas

2.4.1. Especie vegetal *Piper aduncum* (Matico)

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida (Dicotyledoneae)

Subclase: Magnoliidae

Orden: Piperales

Familia: Piperaceae

Género: Piper

Especie: *Piper aduncum* L. (47)

2.4.1.1. Características

El Matico (*Piper aduncum* L.), es una planta tropical americana, como se puede observar en la figura N°1, posee hoja perenne en forma de árbol o arbusto que se encuentra generalmente en suelos con elevado contenido de materia orgánica y humedad y crece hasta una altura de 6-7 metros. El tallo es leñoso, nudoso, ramificado, delgado y erecto de color verde claro o gris. (48)

Las hojas de matico tienen una característica simple de forma estrechamente a ampliamente oblongas - lanceoladas, pecioladas y alternas. Su medida de largo es de 13 a 20 cm y de ancho es de 4.5 a 8 cm, tienen forma ovalada y son lampiñas, su ápice tiene una forma acumulada y la base es de forma redondeada. El color de las hojas es entre un color amarillo y verde, asimismo, presenta pubescencia en el haz de la hoja y en el envés es lustrosa. (48)

El tronco tiene una copa ajustada y es de forma alargada, las ramas son rectas y tienen una forma alargada con pelos de pequeño tamaño de color blanco y ubicado de manera discontinua, lampiños con el tiempo, respecto a las ramas extensas usualmente poco pendientes, presentan peciolos cortos y ásperos. (48)

La inflorescencia se muestra como una espiga únicamente contraria a la hoja, encima de pedúnculos finos arqueados de un largo de 1,5 cm, y cuando maduran son de un tamaño de 10 a 13 cm de extensión. Las flores tienen una coloración blanca a amarillento pálido que se reparten como un espiral alrededor del raquis, no tienen perianto por lo que son bisexuales aclamídeas, su forma de polinización es por el viento. Los frutos, son drupas aplanadas y ovoides de coloración parda con estigmas sésiles y semillas negras. (48)

Figura N° 1. Especie Vegetal *Piper aduncum* L. (Matico)



Fuente: Fotografía propia

2.4.1.2. Hábitat

El matico (*Piper aduncum* L.) crece en regiones ubicadas en ceja de selva y también en la selva baja, en bosques montañosos que contienen humedad, en zonas donde hay saturación de vegetación o abiertas, también crece en los bordes del camino o del bosque y en áreas donde pasan los ríos, de la misma manera crece en valles interandinos y bosques tropicales. (49)

2.4.1.3. Cultivo

La planta necesita una exposición al menos parcial al sol para conseguir grandes tamaños y florecer, coloniza la mayoría de los suelos, a excepción de los suelos excesivamente drenados y al ser una planta de regiones tropicales, para su cultivo se

debe de tener en cuenta que se puede ubicar en zonas con altitudes menor hasta los 1000 metros y en algunas ocasiones hasta más de los 2000 metros y crece preferiblemente en zonas donde la lluvia cae al menos por una media anual. (49)

2.4.1.4. Distribución

El matico es un arbusto oriundo de Sudamérica el cual crece en Perú, Bolivia y Brasil, en Centroamérica y al norte del caribe. La planta se ha adaptado en muchas áreas mediante el cultivo como América del norte, el pacífico y por el sur de Asia. En Perú, el matico abunda mayormente de manera silvestre en toda la selva peruana y se dispersó por algunas regiones de la sierra baja arropado de los valles interandinos como Cusco, Puno, Cajamarca, Huánuco. (18)

2.4.1.5. Usos del matico

En la medicina tradicional botánica en Sudamérica, las hojas frescas son utilizadas en infusión contra la bronquitis, resfrío, inflamación, tos, infecciones del riñón y del hígado, en caso de faringitis las hojas se preparan para hacer lavados y gárgaras, en cuanto a las hojas secas en forma de polvo se usan para lavar heridas, debido a sus propiedades cicatrizantes y astringentes, sus frutos se utilizan como diuréticos, resolutivos como para el caso de blenorragia o cistitis. Su raíz se utiliza para problemas reumáticos. En la selva lluviosa amazónica los nativos la usan como antiséptico y el Perú fue utilizado para contener hemorragias y tratar úlceras. En odontología se evidenció la capacidad que tiene para inhibir la adherencia dependiente de sacarosa y reducir el nivel de producción de ácido por *Streptococcus mutans*, por lo que se sugiere que esta planta puede tener un potencial para prevenir la caries dental. (50)

2.4.1.6. Propiedades

- Antimicrobiano
- Antifúngico
- Expectorante
- Astringente
- Antiinflamatorio
- Insecticida
- Cicatrizante (18)

2.4.1.7. Composición química

Para el *Piper aduncum* se ha informado distintos perfiles químicos el cual varía según las condiciones ambientales, el tiempo de recolección, factores genéticos y el método de extracción. En el aceite esencial el principal constituyente es el dillapiol, un derivado fenilpropenoico, el cual deriva del grupo aromático fenilo de seis carbonos y la cola de

propeno de tres carbonos y al cual se le atribuye su efecto insecticida, antifúngico y antibacteriano. La miristicina, el apiole y la elemicina, son otros componentes presentes con una estructura relacionada con el dillapiole. (18)

En un estudio realizado en Perú determinaron que los componentes que más abundaban fueron los fenilpropanoides, el 1,2,4 – trimetoxi-5-(1-propenil)-benceno o asarona y el metileugenol, seguidamente se encontraron en menor proporción terpenoides, hidrocarburos sesquiterpenoides, sesquiterpenoides oxigenados, hidrocarburos monoterpenoides y los monoterpenoides oxigenados. (18)

Otros estudios indican que otro compuesto importante es el tanino a quien se le atribuye sus propiedades cicatrizantes, también se encontró numerosos glucósidos de tipo flavonoides a quien se le atribuye las propiedades antioxidantes y protectoras de la membrana celular como son la luteolina, linarina, luteolina 7-glucosido y derivados del ácido cafeico. En el aceite esencial de *Piper aduncum* también se encontró el 5-metoxi-6(2'-propen)- benzodiazole, dillapiol, toxidillapiol, piperitona. En las hojas se encontró dillapiol, alcanfor, taninos, saponinas y flavonoides, mientras que en los frutos se encontró ácido 4-metoxi-3, 5-bis (3'-metil-but-2'-en-1')-benzoico. (18)

2.4.2. Especie vegetal *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso)

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub-clase: Rosidae

Orden: Sapindales

Familia: Rutaceae Juss

Sub-familia: Aurantioideae

Género: *Citrus*

Especie: *Citrus jambhiri*

Lush. (51)

2.4.2.1. Características

El limón es un árbol frutal perennifolio que conserva sus hojas verdes durante todo el año. Es de tamaño pequeño, generalmente alcanzando entre 3 y 6 metros de altura, aunque algunos ejemplares longevos pueden superar esta altura. Tiene numerosas ramas con espinas duras y gruesas; su copa tiene una forma amplia y redondeada. (52)

Las hojas de limonero son simples, de color verde pálido, con una forma que puede variar de oblonga a elíptico-ovada. Tienen una longitud de 6 a 12.5 cm y un ancho de 3 a 6 cm. Las hojas tienen una punta corta y obtusa; los bordes están dentados y aserrados, dichas características se presentan en la figura N°2. Por otro lado, las hojas jóvenes presentan un tono rojizo distintivo. (52)

Durante la floración, el limón produce flores solitarias o en racimos en las axilas de las hojas. Las flores son inicialmente rojizas cuando están en botón y luego se abren revelando pétalos blancos en la parte superior y de color púrpura en la parte inferior. Estas flores desprenden un agradable aroma similar al de las flores del naranjo, aunque menos intenso. (52)

El fruto que produce el limonero es el limón. Tiene una forma oblonga u ovalada, con una longitud de 7 a 12 cm y es de color amarillo claro o dorado. La cáscara del limón puede tener un grosor variable y está punteada con glándulas, dependiendo de la variedad. En el interior, la pulpa del limón está dividida en segmentos llamados “gajos”, que están unidos entre sí dando forma al fruto. La pulpa tiene un sabor agrio y fragante. Las semillas del limón son pequeñas, ovoides y puntiagudas. (52)

Figura N°2. Especie vegetal *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso)



Fuente: Fotografía propia

2.4.2.2. Hábitat

En términos generales, los cítricos se consideran plantas tropicales y subtropicales. Sin embargo, existen variaciones en los requisitos específicos de temperatura, tanto máxima como mínima, que varían según la especie, dentro de ellas, las variedades y cultivares. La mayoría de los cítricos tienen una notable capacidad de adaptación a diferentes zonas en términos de temperatura. No obstante, esas diferencias de temperatura ejercen una influencia significativa en ciertos aspectos del árbol. (52)

2.4.2.3. Cultivo

Clima: Los limoneros crecen principalmente en áreas tropicales y también subtropicales. La temperatura juega un papel crítico en su desarrollo y las condiciones ideales incluyen temperaturas medias que varían entre un mínimo de 10°C y un máximo de 24°C. Si las temperaturas superan los 35°C, pueden ocasionar problemas en el crecimiento de la planta y provocar una maduración más rápida de los frutos. Por otro lado, temperaturas por debajo de los 12°C afectarán negativamente el crecimiento de la parte vegetativa de la planta. (53)

Humedad: Además de la temperatura, la humedad relativa también influye en la calidad de la fruta del limonero. Se considera que un rango adecuado de humedad relativa está entre el 40% y el 70%. Cuando la humedad relativa es alta, puede favorecer el desarrollo de afecciones causadas por hongos en los limoneros y otros cítricos. (53)

Otra característica importante para el cultivo de limoneros es la exposición a la luz solar. Los limoneros y los cítricos en general requieren una alta luminosidad para un crecimiento óptimo. (53)

Suelo: Los cítricos se desarrollan mejor en suelos con una textura limo arenosa, que son profundos, tienen una buena capacidad de retención de humedad y están bien drenados. El drenaje deficiente o el encharcamiento se considera una limitación crítica para los cítricos. (54)

2.4.2.4. Distribución

El Limón risso crece a lo largo del mundo, principalmente en India, México, China, Brasil, Argentina, Perú. En nuestro país, la región de Piura se consolida como la primera región productora de Limón, existen otras regiones en el país, como Lambayeque, Tumbes, Loreto, Ucayali, Cusco, que se dedican a la producción del limón. Durante las últimas décadas, la producción de cítricos en el Perú experimentó un considerable crecimiento, especialmente en las regiones de la costa y selva central del país. (55)

2.4.2.5. Usos del limón

El limón destaca por una amplia variedad de usos medicinales y terapéuticos, en gran parte debido a su alto contenido de vitaminas, especialmente vitamina C y sus propiedades antisépticas y bactericidas. (56)

Además, posee propiedades que favorecen la cicatrización y fortalecen el sistema inmunitario. Su capacidad antioxidante contribuye a neutralizar sustancias cancerígenas, como las nitrosaminas. Diversas investigaciones corroboraron que individuos que consumen cantidades significativas de vitamina C presentan un riesgo reducido de padecer afecciones crónicas, como enfermedades del corazón, cataratas y trastornos neurodegenerativos. (57)

Los ácidos presentes en el limón potencian la acción de la vitamina C y tienen un efecto notablemente antiséptico. El limón es igualmente una excelente fuente de fibra soluble, es así que la pectina (que se encuentra fundamentalmente en la capa blanca, por debajo de la cáscara), que posee propiedades beneficiosas, como la capacidad de reducir los niveles de colesterol y glucosa en la sangre, al mismo tiempo estimula el crecimiento de la flora intestinal. (57)

2.4.2.6. Propiedades

- Antiséptico
- Antimicrobiano
- Antioxidante
- Antiinflamatorio
- Cicatrizante
- Mejora la función del sistema inmunitario
- Astringente
- Depurativa, digestiva. (57)

2.4.2.7. Composición química

La pulpa del limón contiene ácidos orgánicos, principalmente ácido cítrico y en menor medida, ácido málico (que le otorgan su sabor ácido), así como ácido acético y ácido fórmico. Además, esta pulpa contiene compuestos fenólicos, por ejemplo, el ácido cafeico y el ácido ferúlico, los cuales funcionan como antioxidantes potentes y tienen la capacidad de suprimir la actividad carcinogénica. (58)

No obstante, los elementos más destacados del limón vienen a ser los fitonutrientes, particularmente los limonoides, que se encuentran principalmente en la cáscara y

desempeñan un papel fundamental en la prevención de ciertos tipos de enfermedades cancerígenas. (58)

Es así que la capa blanca situada debajo de la cáscara como la pulpa del limón contienen flavonoides, específicamente citroflavonoides, que se les atribuyen propiedades antiinflamatorias. Algunos estudios sugieren que el componente (hesperidina), el flavonoide más abundante, así como otros flavonoides como la diosmina, la naringenina y la eriocitrina, tienen efectos venotónicos y vasoprotectores. Estos compuestos fortalecen la estructura de los vasos capilares, también tienen la función de aumentar la elasticidad de las arterias y reducen la formación de coágulos. Por lo tanto, el limón resulta útil en la prevención de enfermedades cardiovasculares y mejora la función circulatoria. (58)

Los compuestos volátiles que predominan en el aceite esencial de Limón risso son principalmente monoterpenos y algunos sesquiterpenos, entre ellos se tiene al limoneno, citral, beta-pineno, terpineno, linalool, sabineno, geraniol, terpinoleno, entre otros. (58)

El limón también contiene una cantidad notable de potasio, siendo este el mineral más abundante. También se encuentran pequeñas cantidades de magnesio y fósforo. La vitamina C desempeña un papel crucial en la formación de colágeno, huesos y dientes, así como en la producción de glóbulos rojos. Además, favorece la absorción de hierro de los alimentos y fortalece la resistencia frente a las infecciones. (58)

El potasio es necesario para la transmisión y generación de impulsos nerviosos, así como para el funcionamiento normal de la actividad muscular. También juega un papel importante en el equilibrio de agua dentro y fuera de las células. El magnesio está relacionado con el funcionamiento adecuado del intestino, los nervios y los músculos. Además de formar parte de los huesos y los dientes, mejora la inmunidad y tiene un efecto laxante suave. El fósforo contribuye a la mineralización adecuada de los huesos y dientes. (58)

2.5. Descripción de la cepa a utilizar

2.5.1. *Streptococcus mutans*

2.5.1.1. Clasificación científica

Reino: Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Lactobacillales

Familia: Streptococcaceae

Género: *Streptococcus*

Especie: *S. mutans*. (59)

2.5.1.2. Descripción

Streptococcus mutans es un tipo de bacteria que pertenece al grupo de Gram positivas y tiene la capacidad de vivir tanto en ambientes con oxígeno o sin él, es decir, es anaerobia facultativa. Esta bacteria se encuentra de manera común en la cavidad bucal humana, formando parte de lo que se conoce como placa dental o biofilm dental. Su presencia está estrechamente relacionada con el inicio y progresión de la caries dental, siendo el factor más influyente en el desarrollo de esta enfermedad bucal. (59)

Se ha reconocido ampliamente que el potencial cariogénico de *S. mutans* se basa en tres características principales: en primer lugar, su capacidad para sintetizar grandes cantidades de polímeros extracelulares de glucano a partir de sacarosa, lo cual facilita su colonización permanente en superficies duras y promueve el desarrollo de una matriz polimérica extracelular en el sitio. En segundo lugar, tiene la habilidad de transportar y metabolizar diversos carbohidratos en ácidos orgánicos (acidogenicidad) y en tercer lugar, es capaz de prosperar en condiciones de estrés ambiental, especialmente en entornos con bajos niveles de pH (acidez). (59)

Aunque *S. mutans* no actúa de manera aislada en el desarrollo de la caries dental, estudios realizados en varios laboratorios han demostrado de manera convincente que esta bacteria puede modificar el entorno local creando un medio extracelular rico en polisacáridos (EPS) y con un bajo pH, lo que crea un ambiente favorable para que otras especies acidógenas y acidúricas también prosperen. (59)

2.5.1.3. Caries

La caries dental es una enfermedad infecciosa de los dientes causada por microorganismos, que conduce a la erosión de los tejidos duros afectados, incluyendo

el esmalte, la dentina y el cemento dental. Las caries tienden a formarse bajo acumulaciones de bacterias conocidas como "placa dental". El inicio de las lesiones cariosas está principalmente relacionado con la presencia de comunidades bacterianas, específicamente *Streptococcus mutans*, mientras que la progresión activa de la enfermedad se vincula con la presencia de lactobacilos. Estas comunidades bacterianas tienen la función de metabolizar los carbohidratos y con ello generan un entorno ácido que provoca la desmineralización de la estructura dental subyacente. El consumo frecuente del azúcar está estrechamente relacionado con el desarrollo de estas colonias bacterianas acidogénicas. (43)

Signos y síntomas

Se reconoce por cambios en el color y la textura de la parte afectada. Se observan manchas blancas o negras que con el tiempo evolucionan hacia la formación de una cavidad dental que se profundiza. Los síntomas comunes incluyen un dolor repentino e inexplicable, sensibilidad en el diente y molestias al masticar. (43)

Por lo general, la caries dental comienza de manera invisible en las grietas o fisuras del diente, así como en los espacios donde los dientes se unen. En su etapa inicial, es posible detener e incluso revertir el proceso, pero una vez que avanza, se forma una cavidad en el diente. En esta etapa avanzada, se requiere un tratamiento para restaurar la función del diente, lo cual implica extraer el tejido dental afectado por la caries. (43)

Causas

La principal causa de la caries dental es la falta de higiene bucal por parte del paciente. Sin embargo, también existen otras causas que mencionaremos a continuación:

- Una dieta alta en azúcares artificiales y carbohidratos, lo cual acelera la actividad bacteriana.
- Factores genéticos que pueden resultar en un esmalte dental deficiente o una falta de dureza, lo que hace que el paciente sea más propenso a desarrollar caries. (43)
- La sequedad bucal puede ser un factor importante, ya que la falta de saliva puede estar asociada a ciertas enfermedades o tratamientos de radioterapia, lo cual puede ser preocupante. (43)

Estos factores adicionales pueden contribuir al desarrollo de la caries dental junto con la falta de limpieza oral adecuada.

2.5.1.4. Medios de cultivo

✓ **AGAR SANGRE**

El agar sangre es un medio de cultivo empleado para el aislamiento de diversos microorganismos, al suplementarse con sangre ovina, facilita el crecimiento de bacterias que tienen requerimientos nutricionales exigentes. Dicho agar base puede ser enriquecido con sangre (5-10%). (60)

✓ **INFUSIÓN DE CEREBRO CORAZÓN (BHI)**

El medio de cultivo utilizado es la Infusión de Cerebro Corazón (BHI). Este medio es empleado debido a su alta eficacia para lograr el crecimiento de bacterias, especialmente Streptococcus, meningococo, neumococo, entre otras. (60)

2.5.1.5. Ensayos para evaluar el efecto antimicrobiano

CRECIMIENTO BACTERIANO

El crecimiento se refiere al aumento organizado de todos los elementos constituyentes de un organismo. No se considera crecimiento real el aumento de tamaño que ocurre cuando una célula absorbe agua o almacena lípidos o polisacáridos. La multiplicación de células se produce mediante la fisión binaria, que aumenta el número de bacterias individuales que forman una población conocida como cultivo. (61)

Es crucial hacer una distinción entre el crecimiento de células individuales y el crecimiento de poblaciones, especialmente en microorganismos, donde los estudios se centran en el crecimiento de poblaciones debido a su pequeño tamaño. (61)

El crecimiento de una población se produce cuando el número de células aumenta a través del crecimiento individual y la posterior división celular. Este tipo de crecimiento ocurre de manera exponencial, lo que significa que cada célula se divide en dos células hijas y a su vez, cada una de esas células hijas se divide en dos más, lo que resulta en una duplicación de la población en cada periodo de división. (61)

CURVA DE CRECIMIENTO

Las fases de la curva de crecimiento bacteriano, representan los sucesos que ocurren en una población de organismos, no en células individuales. A este tipo de cultivo se le denomina cultivo discontinuo.

- **Fase de latencia:** Las células que carecen de metabolitos y enzimas debido a las condiciones desfavorables al final de su cultivo previo, se adaptan a su nuevo ambiente.
- **Fase exponencial:** Las células se encuentran en un estado de equilibrio.

- **Fase estacionaria:** La falta de nutrientes o la acumulación de productos tóxicos detiene completamente el crecimiento.
- **Fase de declinación (fase de muerte):** que sigue a un periodo en estado estacionario, la viabilidad de las células disminuye a un ritmo específico. La velocidad de esta disminución varía dependiendo del tipo de organismo y las condiciones del cultivo. El índice de mortalidad aumenta gradualmente hasta alcanzar un nivel constante. (61)

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)

En la clasificación se tienen los siguientes:

- **Métodos cuantitativos:** Se emplean para calcular la concentración mínima inhibitoria (CIM) y la concentración mínima bactericida (CBM). La CIM se define como la menor cantidad de antibiótico que, en un lapso de tiempo específico, puede detener el crecimiento *in vitro* de una población bacteriana que ha sido previamente estandarizada (con una concentración conocida de microorganismos. Por otro lado, la CBM se refiere a la mínima concentración de un antibiótico que, durante un tiempo predeterminado, logra causar la *muerte in vitro* del 99.9% de una población bacteriana que ha sido estandarizada previamente. Para determinar la CMI, se pueden emplear varios métodos, como la microdilución o macrodilución en caldo, la dilución en agar o el E-test, que es un método de marca comercial. (62)
- **Métodos cualitativos:** los métodos cualitativos, como el de disco difusión, se emplean para clasificar directamente a un microorganismo como sensible o resistente a un antibiótico. El método de disco difusión es ampliamente utilizado en la práctica diaria. (62)

MÉTODOS DE DIFUSIÓN

Método del antibiograma (kirby bauer)

El antibiograma disco-placa, basado en el trabajo de Bauer, Kirby y sus colaboradores, es considerado uno de los métodos recomendados por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) para determinar la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. Este método se clasifica como cualitativo y se caracteriza por su facilidad para estandarizarse. Es especialmente adecuado para microorganismos que no requieren un rápido crecimiento. (62)

MÉTODOS DE DILUCIÓN

El método de dilución en agar o caldo se emplea como un examen de susceptibilidad microbiana para calcular tanto la Concentración Mínima Bactericida (CMB) como la

Concentración Mínima Inhibitoria (CIM). Dichas pruebas se basan en el estudio del crecimiento de los microorganismos en presencia de concentraciones crecientes del agente antimicrobiano, el cual se diluye en el medio de cultivo (ya sea caldo o agar). Los métodos de microdilución en caldo son considerados especialmente útiles para determinar la CMI en un gran número de muestras. (62)

2.6. Gel

Los geles son una forma farmacéutica semisólida compuesta por un solvente espesado mediante la adición de sustancias con naturaleza coloidal. Estos coloides son polímeros que actúan como agentes gelificantes, conformando la fase dispersa, mientras que el solvente líquido constituye la fase continua. (63)

Normalmente, la fase continua se compone de agua o soluciones hidroalcohólicas, lo que da lugar a los llamados hidrogeles. Sin embargo, también es posible gelificar aceites, resultando en lo que se conoce como lipogeles. Otra opción es emplear los polímeros para gelificar la fase acuosa de una emulsión, creando lo que se denomina crema-gel. (63)

2.6.1. Características

- *Buena extensibilidad:* Pueden extenderse fácilmente sobre la piel formando películas continuas, lo que facilita la absorción de los fármacos.
- *Aspecto agradable:* Suelen ser transparentes, lo que les da un aspecto agradable y favorece la adherencia a los tratamientos.
- *Versatilidad de consistencia:* La consistencia del gel puede ajustarse al modificar la concentración del polímero gelificante, permitiendo obtener preparados muy fluidos (por ejemplo, para salivas y lágrimas artificiales), semifluidos (como sueros) o incluso de gran consistencia. Algunos geles son tixotrópicos, lo que significa que su viscosidad disminuye al agitarlos, facilitando su aplicación, y recuperan su estructura al dejarlos en reposo.
- *Compatibilidad con diferentes sustancias:* Aunque son ideales para transportar principios activos hidrosolubles, también pueden incorporar otras sustancias, incluso grasas, lo que permite formar crema-geles o activos liposomados.
- *Costo económico:* En general, son muy económicos, ya que el agua es el componente mayoritario y puede representar hasta el 99% del excipiente.
- *Amplia aplicabilidad:* Muchos geles pueden utilizarse tanto sobre la piel como en mucosas y algunos incluso se emplean por vía interna para la lubricación de sondas o catéteres. (63)

2.6.2. Tipos de geles

La clasificación más práctica de los geles se basa en el origen y características de los gelificantes utilizados. Algunas de las categorías más comunes son las siguientes: (63)

1. DE ORIGEN NATURAL:

Los geles obtenidos de fuentes vegetales o animales prácticamente no se emplean en la actualidad para elaborar fórmulas tópicas, siendo más comunes como espesantes en formas orales. Algunos ejemplos de gelificantes vegetales son el almidón, la pectina, diversas gomas como la arábica o la de tragacanto, así como mucílagos como el agar o los alginatos. En contraste, la gelatina es el único gelificante obtenido de origen animal. (63)

Por otra parte, la bentonita, un silicato de aluminio, tiene la capacidad de formar geles cuando se encuentra en presencia de altas concentraciones de sales minerales, pero su uso se limita principalmente a la elaboración de la loción de calamina. Dentro de este grupo, también encontramos la goma xanthan, que es producida por la bacteria *Xanthomonas campestris*. (63)

2. DE ORIGEN SEMISINTÉTICO:

En este caso los más conocidos son aquellos derivados de la celulosa, que incluyen la metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa. Además de estos, también se pueden emplear derivados de la goma guar en la formación de geles. Estos polímeros son ampliamente utilizados en diversas aplicaciones farmacéuticas y cosméticas debido a sus propiedades gelificantes y espesantes. (63)

2.7. Gel dental

El gel dental es un dentífrico destinado a la limpieza de los dientes y la cavidad bucal, es de consistencia semisólida y según su formulación puede tener actividad terapéutica o profiláctica de patologías bucales como anti caries, anti placa, gingivales o de sensibilizantes. Su diferencia con una pasta dental es la consistencia, siendo el gel de una cualidad más acuosa, gomosa y la pasta dental más densa y arcillosa, además que la pasta dental en su uso genera más espuma y una sensación de limpieza cuando en realidad hace es irritar las encías y rayar la superficie de los dientes. Así también, el gel dental al no poseer de un componente abrasivo en su composición logra un cepillado con menor ardor en la boca. (14)

2.7.1. Forma de elaboración

La fórmula patrón en general va estar constituida por un principio activo y como excipiente va tener a un gelificante, regulador del pH si procede y un diluyente. Respecto al entorno se recomienda elaborar en un área de trabajo con una humedad relativa menor o igual al 60% y a una temperatura de 20 °C a 30°C. (64)

La elaboración consiste primeramente en pesar todos los componentes, luego el gelificante se dispersa en parte del diluyente por toda la superficie evitando la formación de grumos, para la total imbibición del diluyente se deja reposar el tiempo suficiente, seguidamente se procede a agitar, pero evitando la incorporación de aire hasta obtener un gel uniforme. (64)

En el momento de agregar el principio activo, se recomienda agregar en el diluyente disuelto previo a la elaboración del gel, si no es factible una vez elaborado el gel se incorporará los principios activos solubles en el resto del diluyente y si el principio activo es insoluble en el diluyente, se deberá disolver o dispersar en el mínimo volumen posible de un solvente con la polaridad adecuada. (64)

En caso de que sea necesario para la gelificación, se puede agregar la sustancia reguladora del pH si procede, ajustando al pH deseado. Con respecto a la velocidad, tiempo de agitación y temperatura, estos se especifican en cada formulación en concreto y los materiales necesarios para su elaboración son los vasos precipitados y un agitador mecánico con/sin calefacción o manual. (64)

2.7.2. Control de calidad del gel dental elaborado

El producto elaborado deberá de ser evaluado de acuerdo a los distintos parámetros de control de calidad, el cual varían acorde al modelo de producto farmacéutico, en este estudio se realizará un control de calidad de un preparado semisólido, según la Real Farmacopea Española Monografía N° 0132 ya que el gel se considera una forma farmacéutica semisólida. (65)

El hidrogel una vez elaborado necesita de al menos 24 horas de maduración, para proceder a llevar a cabo los ensayos pertinentes de calidad, puesto que en ese transcurso de tiempo se supone que el gel logra la máxima imbibición en el líquido gelificante mayoritario, formado en la mayoría de los casos por agua o soluciones hidroalcohólicas o hidro-propilen-alcohólicas. (65)

Caracteres Físicos y Organolépticos:

Las siguientes características mencionadas se deben verificar por observación directa.

1. **Color:** El gel por naturaleza es incoloro, quien le confiere cierta coloración son los principios activos incorporados, como el color ámbar cuando se prepara un gel con extractos hidroalcohólicos de plantas. (65)
2. **Olor:** El gel dependiendo del tipo de agente gelificante empleado va a tener un cierto olor, así como la incorporación de principios activos también puede hacer variar el olor. (65)
3. **Evanescencia:** Algunos geles suelen ser evanescentes y otros carecen de esta propiedad, el cual genera un efecto refrescante al ser aplicado sobre la piel debido a la evaporación del agua contenida en el mismo, característico de los geles como el Carbopol 940, carboximetilcelulosa sódica, hidroxietilcelulosa, metilcelulosa, etc. por lo que se emplean como excipientes en el tratamiento de procesos agudos dermatológicos. (65)
4. **Determinación de extensibilidad:** Este control indica que el gel tiene la capacidad para ser aplicado y distribuido uniformemente durante su uso, asimismo es un modo de examinar que la elaboración ha sido apropiadamente reproducida, para lo cual se toma una porción de gel y se aplica sobre el antebrazo en forma longitudinal y en un único sentido. Para comparar no existen valores de referencia, por ello quien crea sus propios márgenes de tolerancia es la propia oficina de farmacia y para asegurarse que el ensayo sea válido se debe de tener en cuenta que la humedad relativa, cantidad de preparado, condiciones ambientales como de temperatura, el tiempo de lectura, etc., deben ser los mismos durante cada ensayo. La extensibilidad de los geles queda regulada por la presencia de polioles, usualmente por propilenglicol o glicerina, cuanto mayor es la concentración de estas sustancias mayor es la extensibilidad. (65)
5. **Consistencia aparente:** Existen cuatro tipos de consistencia en los geles, en función de su resistencia al ser agitados con una varilla de vidrio.
 - Consistencia fluida: Estos geles apenas presentan resistencia al ser agitados y se pueden considerar prácticamente líquidos, se emplean como bases viscosizantes en la elaboración de suspensiones.
 - Consistencia semifluida: Presentan una resistencia ligera a la agitación y tienen una consistencia semejante a un jarabe.
 - Consistencia media: Muestran una moderada resistencia a la agitación y tras su volcado hacia otro recipiente apenas carecen de movimiento.

- Consistencia alta: Muestran una alta resistencia a la agitación y tras su volcado a otro recipiente carecen de movimiento. (65)
6. **Transparencia:** La mayoría de los geles suelen tener una alta transparencia, sin embargo, hay algunos factores que originan geles translúcidos hasta opacos, como son:
 - Existencia de trazas metálicas en el líquido gelificante el cual puede provenir del utillaje empleado para la elaboración o de las impurezas de algunos excipientes.
 - Tiempo no adecuado de imbibición del agente gelificante.
 - Principios activos no solubilizados en el agua del gel o insolubles solubilizados de manera incorrecta.
 - Principios activos insolubles pulverulentos añadidos de forma directa formando una pasta, el cual da resultado a un gel opaco. (65)
 7. **Determinación del pH:** Mediante este ensayo se determinará la actividad de iones hidrógenos empleando el pH metro según el procedimiento normalizado. (65)
 8. **Existencia de agregados de agente gelificante:** En una inadecuada gelificación o agitación suelen aparecer en forma de grumos transparentes durante la elaboración.
 9. **Existencia de exudación:** Cuando hay una inadecuada imbibición entre el líquido gelificante y el agente se da este fenómeno a causa del empleo de incorrectos cosolventes cuantitativamente o cualitativamente para disolver un principio activo insoluble en el líquido gelificante, el cual se puede ver a simple vista o con una lupa al realizar una extensión sobre una superficie negra. (65)
 10. **Control microbiológico:** A través de este ensayo se estimará la calidad sanitaria del gel dental elaborado, en el cual se procederá a realizar un conteo de los microorganismos tales como levaduras mesófilos aerobios u hongos. (65)
 11. **Determinación de la viscosidad:** La viscosidad es una propiedad que está asociada a la fricción interna en la solución, el cual expone la resistencia del líquido al flujo.
 12. **Prueba de estabilidad:** Consiste en someter el producto elaborado a ciclos de calentamiento-enfriamiento para observar algún cambio en su aspecto físico. (65)

MARCO CONCEPTUAL

- ACEITE ESENCIAL:
 - Los aceites esenciales son mezclas naturales, complejas y volátiles de compuestos orgánicos que se encuentran en diferentes partes de las plantas, tales como hojas, flores, frutos, cortezas, raíces y tallos. Estas sustancias se caracterizan por poseer un aroma intenso y por presentar diversas propiedades biológicas. (66)

- ANTIBACTERIANO:
 - Se define como una propiedad de un medicamento o una sustancia que se usa para combatir las bacterias mediante la acción de frenar su crecimiento, multiplicación o destruirlas, sin daño alguno en el organismo infectado. (67)

- ATCC:
 - El American Type Culture Collection es un centro global de recursos biológicos el cual desarrolla y provee líneas de células y microorganismos auténticos, una organización de estándares que provee estos recursos para que sean utilizados en las investigaciones científicas como referencia, trabajo y reserva. (68)

- CARIOGÉNICO:
 - Se define aquel alimento o microorganismo que tiene la capacidad de generar, favorecer o fomentar el desarrollo de caries dental en la cavidad bucal, el principal cariogénico en la boca es el *Streptococcus mutans* y junto a una dieta alta en carbohidratos condiciona su infecciosidad. (69)

- CARIES DENTAL:
 - La caries dental es una de las enfermedades bucales más comunes, tanto a nivel nacional como mundial. Se considera una enfermedad infecciosa y contagiosa que afecta los dientes, causando una descomposición gradual de sus tejidos calcificados. La bacteria *Streptococcus mutans* es comúnmente encontrada en la placa dental o biofilm y está directamente relacionada con el inicio y progresión de la caries. (17)

- CEPAS:
 - Cepa se define como una población de microorganismo de la misma especie que se origina de una muestra en particular o de una única célula, la que usualmente es propagada o multiplicada clonalmente dependiendo del interés en su conservación. (70)

- CMI:
 - Concentración Mínima inhibitoria, es la menor concentración (en $\mu\text{g/ml}$) de un agente antimicrobiano que detiene visiblemente el crecimiento de un microorganismo después de un tiempo específico de incubación. (71)

- GELIFICANTE:
 - Son sustancias poliméricas orgánicas que tienen la capacidad de formar estructuras tridimensionales o coloidales en medio líquido, es decir al entrar en contacto con otra, la hace más viscosa o densa. (72)

- GEL DENTAL
 - Es una forma farmacéutica semisólida destinada para la higiene de los dientes y la cavidad bucal, que, dependiendo de su formulación, puede tener propiedades terapéuticas. (17)

- MEDIO DE CULTIVO:
 - Un medio de cultivo es una combinación de elementos que proporciona las condiciones óptimas para el crecimiento y desarrollo de los microorganismos. (73)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Material biológico

3.1.1. Material vegetal

- *Piper aduncum* “Matico”
- *Citrus jambhiri* Lush “Limón Risso”

3.1.2. Material microbiano

- Cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

3.2. Materiales e instrumentos

3.2.1. Materiales de campo

- Bolsas de polietileno transparentes
- Bolsas de papel Kraft
- Cámara fotográfica
- Cuaderno de campo
- Cúter
- Tijeras podadoras
- Guantes
- Lapiceros
- Plumones marcadores

3.2.2. Materiales de laboratorio

- Vaso precipitado 50, 100 y 250 mL.
- Tubos de ensayo
- Probetas
- Matraz
- Baguetas
- Fiolas
- Placas Petri
- Embudo
- Luna de reloj
- Láminas porta y cubre objeto
- Asas de siembra
- Hisopos estériles
- Algodón
- Mechero Bunsen
- Pipetas

- Micropipeta de 100-1000 uL
- pH-metro digital
- Gradillas
- Pinzas
- Papel Kraft
- Papel aluminio
- Vernier
- Pesas calibradoras
- Papel milimetrado
- Papel filtro

3.2.3. Equipos de laboratorio

- Agitador magnético
- Destilador de aceite esencial
- Balanza analítica (0.001 gr)
- Autoclave automático digital.
- Viscosímetro Anton Paar
- Destilador de agua
- Incubadora
- Refrigeradora
- Centrífuga Hettich
- Refractómetro
- Polarímetro
- Campana extractora de gases
- Cabina de flujo laminar

3.2.4. Solventes y reactivos

- Agua destilada
- Cloroformo
- Ácido acético
- Acetona
- Alcohol 70° y 96°
- Metanol
- Bencina
- Hexano
- Acetato de etilo
- Hidróxido de potasio
- Alcohol neutralizado (hidróxido de sodio y alcohol)

- Fenolftaleína
- Solución salina

3.2.5. Insumos para la elaboración del gel dental de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Risso”

- Glicerina
- Carboximetilcelulosa sódica
- Tween 80
- NaOH 10%
- Sorbitol
- Stevia
- Agua destilada
- Aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico”
- Aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* “Limón Risso”

3.2.6. Medios de cultivo

- Agar Sangre – enriquecido con sangre 7%.
- Agar de Sabouraud
- Agar nutritivo
- Caldo BHI (caldo: Infusión Cerebro Corazón)
- Agar Cetrimida
- Agar TSA (Agar Trypticaseína Soya)
- Agar Mac Conkey
- Agar Manitol Salado

3.2.7. Otros materiales

- Barbijos
- Guardapolvo
- Gorras
- Guantes
- Hilo pabilo

3.3. Diseño de la investigación

3.3.1. Diseño metodológico

3.3.1.1. Tipo de investigación

El presente estudio de investigación, precisa evaluar la actividad *in vitro* del gel dental elaborado con los aceites esenciales de *Piper aduncum* y *Citrus jambhiri Lush* sobre la cepa bacteriana de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, por lo cual se realizó el siguiente diseño de investigación.

3.3.1.2. Diseño de investigación

Para la investigación se estableció un diseño experimental de tipo cuasiexperimental, debido a que se manipuló deliberadamente al menos una variable independiente para observar su actividad antibacteriana (efecto) y la relación a una o más variables dependientes.

En el presente estudio se manipularon las variables concernientes a los volúmenes del aceite esencial presente en el gel dental elaborado, en correlación con la actividad *in vitro* frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

3.3.2. Diseño de la prueba de actividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri* Lush “Limón Riso” por el método de macrodilución (Concentración Mínima Inhibitoria)

Para determinar la actividad antibacteriana *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “MATICO” y *Citrus jambhiri* Lush “LIMÓN RISSO”, se siguió el siguiente diseño detallado en la tabla N° 3.1.

Tabla N° 3.1. Diseño de la prueba de actividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) Y *Citrus jambhiri* Lush (Limón Riso) por el método de macrodilución

GRUPO	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G ₁	-	O ₁
G ₂	X ₁	O ₂
G ₃	X ₂	O ₃
.	.	.
.	.	.
G _x	X _x	O _x
G _{x+1}	X _{x+1}	O _{x+1}

Fuente: elaboración propia.

Donde:

- G₁, G₂...G_{x+1}: Cepas estándar de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- (-): Control negativo (Caldo BHI – Infusión Cerebro Corazón)
- X₁: Aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” al 100%.

- X₂: Aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” al 50%.
- X₃: Aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” al 25%.
- X₄: Aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” al 12.5%.
- X₅: Aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” al 6.25%.
- X₆: Aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” al 3.13%.
- X₇: Aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” al 1.56%.
- X₈: Aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso” al 100%.
- X₉: Aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso” al 50%.
- X₁₀: Aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso” al 25%.
- X₁₁: Aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso” al 12.5%.
- X₁₂: Aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso” al 6.25%.
- X₁₃: Aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso” al 3.13%.
- X₁₄: Aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso” al 1.56%.
- O₁, O₂...O_{x+1}: Observación de presencia y/o ausencia de turbidez.

3.3.3. Diseño de la formulación de gel dental elaborado a partir de los aceites esenciales

- GEL DENTAL A BASE DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso”

Para desarrollar el gel dental a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “MATICO” y *Citrus jambhiri Lush* “LIMÓN RISSO”, se siguió el diseño de formulación descrito en la tabla N° 3.2.

Tabla N° 3.2. Diseño de la formulación del gel dental a partir de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso”

GRUPO	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL							MEDICIÓN DE LA PRUEBA													
	X ₁	X ₅	X ₆	X ₇	-	X _{9,10}	X ₁₁	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄	O ₅	O ₆	O ₇	O ₈	O ₉	O ₁₀	O ₁₁	O ₁₂	O ₁₃	O ₁₄
G ₁	X ₁	X ₅	X ₆	X ₇	-	X _{9,10}	X ₁₁	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄	O ₅	O ₆	O ₇	O ₈	O ₉	O ₁₀	O ₁₁	O ₁₂	O ₁₃	O ₁₄
G ₂	X ₂	X ₅	X ₆	X ₇	-	X _{9,10}	X ₁₁	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄	O ₅	O ₆	O ₇	O ₈	O ₉	O ₁₀	O ₁₁	O ₁₂	O ₁₃	O ₁₄
G ₃	X ₃	X ₅	X ₆	X ₇	-	X _{9,10}	X ₁₁	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄	O ₅	O ₆	O ₇	O ₈	O ₉	O ₁₀	O ₁₁	O ₁₂	O ₁₃	O ₁₄

Donde:

- G₁: Formulación del gel dental N°1
- G₂: Formulación del gel dental N°2
- G₃: Formulación del gel dental N°3

- X₁: Aceite esencial del *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri* Lush “Limón Risso” al 1% - Combinación de ambos aceites esenciales 1:1, (0.5 mL del aceite esencial de Matico y 0.5 mL del aceite esencial de Limón risso).
- X₂: Aceite esencial del *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri* Lush “Limón Risso” al 2%. (1 mL del aceite esencial de Matico y 1 mL del aceite esencial de Limón risso).
- X₃: Aceite esencial del *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri* Lush “Limón Risso” al 3%. (1.5 mL del aceite esencial de Matico y 1.5 mL del aceite esencial de Limón risso).
- X₅: CMC sódica (g)
- X₆: Glicerina (mL)
- X₇: Tween 80 (Estabilizador)
- X₈: NaOH 10%
- X₉: Sorbitol
- X₁₀: Stevia
- X₁₁: Agua destilada (mL)

3.3.4. Determinación de propiedades organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas del gel dental de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri* Lush “Limón Risso”

- O₁: Color
- O₂: Olor
- O₃: Sabor
- O₄: Consistencia
- O₅: Comprobación de la homogeneidad
- O₆: Transparencia
- O₇: Determinación de la untabilidad (Extensibilidad)
- O₈: Medición del pH
- O₉: Medición de la viscosidad
- O₁₀: Prueba de adherencia
- O₁₁: Prueba de estabilidad acelerada
- O₁₂: Prueba de estabilidad
- O₁₃: Prueba de calentamiento – refrigeración
- O₁₄: Control microbiológico

3.3.5. Diseño de prueba antibacteriana del gel dental elaborado con los aceites esenciales por el método de kirby bauer modificado

Para determinar la actividad antibacteriana sobre las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, de los geles dentales elaborados con los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso”, se siguió el diseño de post prueba y grupo control. El detalle del diseño experimental utilizado se presenta en la tabla N° 3.3.

A. Gel dental de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso” frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Tabla N° 3.3. Diseño de prueba antibacteriana del gel dental elaborado con el aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso”

GRUPO	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA		
		O ₁	O ₂	O ₃
G ₁	X ₁	O ₁	O ₂	O ₃
G ₂	X ₂	O ₄	O ₅	O ₆
G ₃	X ₃	O ₇	O ₈	O ₉
G ₄	X ₄	O ₁₀	O ₁₁	O ₁₂
G ₅	X ₅	O ₁₃	O ₁₄	O ₁₅

Fuente: elaboración propia.

Donde:

- G₁, G₂, ...G₅: Cepas estándar de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- X₁: Gel dental elaborado a base del aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso” a una concentración de 1%.
- X₂: Gel dental elaborado a base del aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso” a una concentración de 2%.
- X₃: Gel dental elaborado a base del aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso” a una concentración de 3%.
- X₄: Gel dental patrón (Gel dental de colgate)
- X₅: Antibióticos (Ciprofloxacino y Clindamicina)
- O₁, O₂, O₃...O₁₅: Observación y medición de los halos de inhibición del gel dental elaborado con el aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso” a las 24 horas.

3.3.6. Diseño de prueba de actividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 del gel dental elaborado con los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Risso” por el método de macrodilución

Para determinar la actividad antibacteriana *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 del gel dental elaborado con los aceites esenciales de *Piper aduncum* “MATICO” y *Citrus jambhiri Lush* “LIMÓN RISSO”, se siguió el diseño de posprueba y grupo control. La evaluación se realizó mediante el método de macrodilución, siguiendo los lineamientos establecidos. El diseño experimental aplicado se detalla en la Tabla N° 3.4

Tabla N° 3.4. Diseño de prueba de actividad *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” *Citrus jambhiri Lush* “Limón Risso” por el método de macrodilución.

GRUPO	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G ₁	X ₁	O ₁
G ₂	X ₂	O ₂
G ₃	X ₃	O ₃
.	.	.
.	.	.
G _x	X _x	O _x
G _{x+1}	-	O _{x+1}

Fuente: elaboración propia.

Donde:

- G₁, G₂...G_{x+1}: Cepas estándar de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- X₁: Gel dental elaborado a base de los aceites esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón risso” al 100%.
- X₂: Gel dental elaborado a base de los aceites esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón risso” al 50%.
- X₃: Gel dental elaborado a base de los aceites esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón risso” al 25%.
- X₄: Gel dental elaborado a base de los aceites esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón risso” al 12.5%.
- X₅: Gel dental elaborado a base de los aceites esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón risso” al 6.25%.

- X₆: Gel dental elaborado a base de los aceites esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón risso” al 3.13%.
- X₇: Gel dental elaborado a base de los aceites esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón risso” al 1.56%.
- (-): Control negativo (base gel)
- O₁, O₂...O_{x+1}: Observación de presencia y/o ausencia de turbidez.

3.4. Definición y operacionalización de variables

3.4.1. Variables implicadas

3.4.1.1. Variables independientes

- I. Gel dental a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO).

DEFINICIÓN CONCEPTUAL:

Es un dentífrico destinado a la limpieza de los dientes y la cavidad bucal, es de consistencia semisólida y según su formulación puede tener actividad terapéutica o profiláctica de patologías bucales como anti caries. (74)

INDICADORES:

A. CONCENTRACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Definición operacional:

- Naturaleza : Cuantitativa
- Medición : Directa
- Escala : Razón
- Instrumento de medición: Micropipeta
- Procedimiento de medición: Se procedió a medir el volumen del aceite esencial de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO) en ml, el cual se incluyó en la formulación y elaboración el gel dental.
- Expresión final : 1%, 2%, 3% de concentración de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO).

B. EVALUACIÓN DEL GEL DENTAL

B1. CONTROL DE CALIDAD ORGANOLÉPTICO

Sub indicadores:

a. Color

Definición operacional:

- Naturaleza : Cualitativo
- Medición : Directa
- Escala : Nominal
- Instrumento de medición: Ficha de recolección de datos
- Procedimiento de medición: Se tomó una muestra en una placa de vidrio y se procedió a observar el color.
- Expresión final : Conforme / no conforme

b. Olor

Definición operacional:

- Naturaleza : Cualitativo
- Medición : Directa
- Escala : Nominal
- Instrumento de medición: Ficha de recolección de datos
- Procedimiento de medición: Se introdujo una tira de papel en la muestra y se determinó las características del olor.
- Expresión final : Característico / no característico

c. Sabor

Definición operacional:

- Naturaleza : Cualitativo
- Medición : Directa
- Escala : Nominal
- Instrumento de medición: Ficha de recolección de datos
- Procedimiento de medición: Se tomó una muestra del gel dental y se identificó el sabor.
- Expresión final : Conforme / no conforme

d. Consistencia

Definición operacional:

- Naturaleza : Cualitativa
- Medición : Directa
- Escala : Ordinal
- Instrumento de medición: Ficha de recolección de datos
- Procedimiento de medición: Se procedió a agitar con una varilla de vidrio el gel dental y se volcó a otro recipiente para verificar su consistencia.
- Expresión final : Grado de consistencia (fluida, semifluida, media y alta).

B2. CONTROL DE CALIDAD FISICOQUÍMICO

Sub indicadores:

1. Comprobación de la homogeneidad

Definición operacional:

- Naturaleza : Cualitativa
- Medición : Directa
- Escala : Nominal
- Instrumento de medición: Ficha de recolección de datos
- Procedimiento de medición: Se untó el gel dental en un trozo de vidrio, se observó contra la luz y se procedió a verificar la presencia de partículas o turbidez, así como la homogeneidad en el color.
- Expresión final : Homogéneo / no homogéneo.

2. Transparencia

Definición operacional:

- Naturaleza : Cualitativa
- Medición : Directa
- Escala : Nominal
- Instrumento de medición: Ficha de recolección de datos
- Procedimiento de medición: Se untó el gel dental en un trozo de vidrio para luego observar contra luz.
- Expresión final : Translúcido / turbio.

3. Determinación de la untabilidad (extensibilidad)

Definición operacional:

- Naturaleza : Cualitativa
- Medición : Directa
- Escala : Nominal
- Instrumento de medición: Ficha de recolección de datos
- Procedimiento de medición: Se colocó una muestra de 0,5 g sobre un trozo de vidrio y se esperó durante 1 minuto, luego se midió el diámetro de la muestra. A continuación, se añadió 1g, 2g, 5g, 10g y 20g de carga sucesivamente y se dejó reposar durante 1 minuto, luego se midió los diámetros correspondientes para cada pesa.
- Expresión final : Extensible / no extensible

4. Medición del pH

Definición operacional:

- Naturaleza : Cuantitativa
- Medición : Indirecta
- Escala : Razón
- Instrumento de medición: pH-metro
- Procedimiento de medición: Se Determinó el valor del pH directamente de la muestra.
- Expresión final : Valor de pH dentro del valor de referencia (6.0 – 7.0).

5. Medición de la viscosidad

Definición operacional:

- Naturaleza : Cuantitativa
- Medición : Indirecta
- Escala : Ordinal
- Instrumento de medición: Viscosímetro
- Procedimiento de medición: La viscosidad se midió utilizando el Viscosímetro Anton Paar a temperatura ambiente y una velocidad

adecuada, colocando 100 ml de gel dental en un vaso precipitado de 250 mL.

- Expresión final : Grado de viscosidad (fluida, semisólida y solida).

6. Prueba de adherencia

Definición operacional:

- Naturaleza : Cuantitativa
- Medición : Directa
- Escala : Razón
- Instrumento de medición: Ficha de recolección de datos
- Procedimiento de medición: Se determinó utilizando el método modificado según Nait et al., 2021; Zhang et al., 2019, donde el gel se adhirió a una superficie cerámica antes de añadir agua purificada gota a gota a las muestras, seguidamente se registró el tiempo de adhesión.
- Expresión final : El tiempo de adhesión fue entre 5-10 min.

7. Prueba de estabilidad acelerada

Definición operacional:

- Naturaleza : Cualitativa
- Medición : Indirecta
- Escala : Nominal
- Instrumento de medición: Centrífuga Hettich
- Procedimiento de medición: Se centrifugó el gel dental durante 30 minutos a una velocidad de 3800 rpm. Al terminar la evaluación no se deben de observar cambios visibles en la forma, olor, el color y la homogeneidad del gel dental.
- Expresión final : Estabilidad en la consistencia / inestabilidad en la consistencia.

8. Prueba de estabilidad

Definición operacional:

- Naturaleza : Cualitativa
- Medición : Directa

- Escala : Nominal
- Instrumento de medición: Ficha de recolección de datos
- Procedimiento de medición: Se almacenó a una temperatura y humedad de $40 \pm 2^{\circ}\text{C}/75 \pm 5\%$ HR (condiciones aceleradas) y $30 \pm 2^{\circ}\text{C}/75 \pm 5\%$ HR (condiciones a largo plazo) durante seis meses, con intervalos de dos meses, donde se observó si se producen cambios en las características fisicoquímicas.
- Expresión final : Estable / inestable

9. Prueba de calentamiento – refrigeración

Definición operacional:

- Naturaleza : Cualitativa
- Medición : Directa
- Escala : Nominal
- Instrumento de medición: Ficha de recolección de datos
- Procedimiento de medición: En cada ciclo de calentamiento – enfriamiento, la temperatura se ajustó a 40°C durante 24 horas y a 4°C durante 24 horas. Las formulaciones optimizadas se almacenaron durante siete ciclos consecutivos, posteriormente se determinaron el aspecto físico, el valor de pH y la viscosidad de los geles dentales
- Expresión final : Conforme / no conforme

B3. Control de calidad microbiológico

Definición operacional:

- Naturaleza : Cualitativa
- Medición : Indirecta
- Escala : Nominal
- Instrumento de medición: Ficha de recolección de datos
- Procedimiento de medición: Se sembró la dilución del gel dental en medios de cultivos específicos para cada uno de los microorganismos.
- Expresión final : Presencia o ausencia de *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, Coliformes fecales (*E. coli*), Mesófilos Aerobios y Hongos filamentosos y levaduras.

3.4.1.2. Variables dependientes

- I. Actividad antibacteriana *in-vitro* del gel dental formulado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri* Lush (LIMÓN RISSO) sobre la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

DEFINICIÓN CONCEPTUAL:

Capacidad del gel dental formulado con aceites esenciales de *Piper aduncum* y *Citrus jambhiri* Lush para inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en condiciones controladas de laboratorio. (75)

INDICADORES

A. SENSIBILIDAD BACTERIANA - FORMA DE MEDICIÓN (KIRBY BAUER MODIFICADO)

DEFINICIÓN OPERACIONAL:

- Naturaleza : Cualitativa
- Medición : Directa
- Escala : Nominal
- Instrumento de cálculo : Vernier
- Procedimiento de medición: Se midió el área alrededor del pozo (zona de inhibición) generada por las diversas concentraciones del aceite esencial del gel dental, dicha medición se realizó haciendo uso del vernier.
- Indicadores : La sensibilidad bacteriana se determina a través de la medición del diámetro de las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano.
- Índices : Resistente/Sensible/Muy sensible/Altamente sensible.
- Expresión final : Clasificación de sensibilidad
 - Resistente (≤ 8 mm)
 - Sensible (8 – 14 mm)
 - Muy sensible (15 – 20 mm)
 - Altamente sensible (>20 mm). (76)

B. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) - FORMA DE MEDICIÓN (MACRODILUCIÓN)

DEFINICIÓN OPERACIONAL:

- Naturaleza : Cuantitativa
- Medición : Directa
- Escala : Razón
- Procedimiento de medición: Se observó el nivel de opacidad que muestran los medios de cultivo que han sido inoculados con *Streptococcus mutans* y expuestos al gel dental a base de los aceites esenciales bajo investigación.
- Indicadores : CMI (Concentración Mínima Inhibitoria)
- Índices: Grado de turbidez:
 - ✓ 0: Sin turbidez (Inhibición)
 - ✓ 1: Poca turbidez (Moderada actividad)
 - ✓ 2: Con turbidez (Poco activo)
 - ✓ 3: Con mayor turbidez (Inactivo)
- Expresión final: mg/mL. (76)

La Tabla 3.5 presenta el resumen de la operacionalización de las variables del estudio, tanto la variable independiente como la variable dependiente. En ella se detallan la definición conceptual, indicadores, subindicadores, naturaleza del indicador, forma de medición, escala de medición, instrumento, procedimiento de medición y expresión final.

Tabla N° 3.5. Resumen de operacionalización de variables implicadas

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	INDICADORES	SUB INDICADORES	NATURALEZA DEL INDICADOR/ FORMA DE MEDICIÓN / ESCALA DE MEDICIÓN	INSTRUMENTO	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	EXPRESIÓN FINAL
Gel dental a base del Aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> (MATICO) y <i>Citrus jambhiri</i> Lush (LIMÓN RISSO).	Es un dentífrico destinado a la limpieza de los dientes y la cavidad bucal, es de consistencia semisólida y según su formulación puede tener actividad terapéutica o profiláctica de	Porcentaje		Cuantitativa/ Directa/ Razón	Micropipeta	Se procedió a medir el volumen del aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> (MATICO) y <i>Citrus jambhiri</i> Lush (LIMÓN RISSO), el cual se incluyó en la formulación y elaboración gel dental.	1%, 2%, 3% de concentración de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (MATICO) y <i>Citrus jambhiri</i> Lush (LIMÓN RISSO).
		Control de calidad organoléptico	Color	Cualitativo/ Directa/ Nominal	Ficha de recolección de datos	Se tomó una muestra en una placa de vidrio y se	Conforme / no conforme

patologías bucales como anti caries, anti placa, gingivales o de sensibilizantes. (74)						procedió a observar el color.	
		Olor	Cualitativo/ Directa/ Nominal	Ficha de recolección de datos	Se introdujo una tira de papel en la muestra y se determinó las características del olor.	Característico / no característico	
		Sabor	Cualitativo/ Directa/ Nominal	Ficha de recolección de datos	Se tomó una muestra del gel dental y se identificó el sabor.	Conforme / no conforme	
		Consistencia	Cualitativa/ Directa/ Ordinal	Ficha de recolección de datos	Se procedió a agitar con una varilla de vidrio el gel dental y se volcó a otro recipiente para verificar su consistencia.	Grado de consistencia: - Fluida - Semifluida - Media - Alta	
	Control de calidad fisicoquímico	Comprobación de la homogeneidad	Cualitativa/ Directa/ Nominal	Ficha de recolección de datos	Se untó el gel dental en un trozo de vidrio, se observó contra la	Homogéneo / no homogéneo	

						luz y se procedió a verificar la presencia de partículas o turbidez, así como la homogeneidad en el color.	
			Transparencia	Cualitativa/ Directa/ Nominal	Ficha de recolección de datos	Se untó el gel dental en un trozo de vidrio para luego observar contra la luz.	Translúcido / turbio
			Determinación De La Untabilidad (Extensibilidad)	Cualitativa/ Directa/ Nominal	Ficha de recolección de datos	Se colocó una muestra de 0,5 g sobre un trozo de vidrio y se esperó durante 1 minuto, luego se midió el diámetro de la muestra. A continuación, se añadió 1g, 2g, 5g, 10g y 20g de carga	Extensible / no extensible

						sucesivamente y se dejó reposar durante 1 minuto, luego se midió los diámetros correspondientes para cada pesa.	
			Medición del pH	Cuantitativa/ Indirecta/ Razón	pH-metro	Se determinó el valor del pH directamente de la muestra.	Valor de pH dentro del valor de referencia, (6.0 – 7.0).
			Medición de la Viscosidad	Cuantitativa/ Indirecta/ ordinal	Viscosímetro	La viscosidad se midió utilizando el Viscosímetro Anton Paar. a temperatura ambiente y una velocidad adecuada, colocando 100 mL de gel en un vaso precipitado de 250 mL.	Grado de viscosidad - Fluida - Semisólida - Sólida

			Prueba de adherencia	Cuantitativa/ Directa/ Razón	Ficha de recolección de datos	Se determinó utilizando el método modificado según Nait et al., 2021; Zhang et al., 2019, donde el gel se adhirió a una superficie cerámica antes de añadir agua purificada gota a gota a las muestras, seguidamente se registró el tiempo de adhesión.	El tiempo de adhesión fue de 5-10 min.
			Prueba de estabilidad acelerada	Cualitativa/ Indirecta/ Nominal	Centrífuga Hettich	Se centrifugó el gel dental durante 30 minutos a una velocidad de 3800 rpm. Al terminar la evaluación no se deben de observar	Estabilidad en la consistencia / inestabilidad en la consistencia

						cambios visibles en la forma, olor, el color y la homogeneidad del gel dental.	
			Prueba de estabilidad	Cualitativa/ Directa/ Nominal	Ficha de recolección de datos	Se almacenó a una temperatura y humedad de 40 ± 2°C/75 ± 5% HR (condiciones aceleradas) y 30 ± 2°C/75 ± 5% HR (condiciones a largo plazo) durante seis meses, con intervalos de 2 meses. donde se observó si se producen cambios las características.	Estable / inestable

			Prueba de calentamiento - refrigeración	Cualitativa/ Directa/ Nominal	Ficha de recolección de datos	En cada ciclo de calentamiento – enfriamiento, la temperatura se ajustó a 40°C durante 24 horas y a 4°C durante 24 horas. Las formulaciones optimizadas se almacenaron durante siete ciclos consecutivos, posteriormente se determinaron el aspecto físico, el valor de pH y la viscosidad de los geles dentales.	Conforme/ no conforme
		Control de calidad microbiológico		Cualitativa/ Indirecta/ Nominal	Ficha de recolección	Se sembró la dilución del gel dental en medios de	Presencia o ausencia de Pseudomona aeruginosa, Staphylococcus aureus,

						cultivos específicos para cada uno de los microorganismos.	Coliformes fecales (E. coli), Mesófilos Aerobios y Hongos filamentosos y levaduras.
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	INDICADORES	SUB INDICADORES	NATURALEZA DEL INDICADOR/ FORMA DE MEDICIÓN / ESCALA DE MEDICIÓN	INSTRUMENTO	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	EXPRESIÓN FINAL
Actividad antibacteriana <i>in-vitro</i> del gel dental formulado a base de los aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> (MATICO) y <i>Citrus jambhiri</i>	Capacidad del gel dental formulado con aceites esenciales de <i>Piper aduncum</i> y <i>Citrus jambhiri</i> Lush para inhibir el crecimiento de	La sensibilidad bacteriana se determina a través de la medición del diámetro de las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano.		Cualitativa/ Directa/ Nominal Forma de Medición: KIRBY BAUER MODIFICADO	El Instrumento usado para la medición es el vernier Índices: Resistente/ Sensible/ Muy sensible/	Se midió el área alrededor del pozo (zona de inhibición) generada por las diversas concentraciones del aceite esencial del gel dental, dicha medición se realizó	Clasificación de sensibilidad: Resistente (≤ 8 mm). Sensible (8 – 14 mm) Muy sensible (15 – 20 mm). Altamente sensible (>20 mm). (76)

Lush (LIMÓN RISSO) sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 en condiciones controladas de laboratorio.(75)				Altamente sensible.	haciendo uso del vernier.	
		CMI (Concentración Mínima Inhibitoria)		Cuantitativa/ Directa/ Razón Forma de medición: MÉTODO DE MACRODILUCIÓN	0: Sin turbidez (inhibición – Buena actividad) 1: Poca turbidez (moderada actividad) 2: Con turbidez (poco activo) 3: Con mayor turbidez (inactivo).	Se observó el nivel de opacidad que muestran los medios de cultivo que han sido inoculados con <i>Streptococcus mutans</i> y expuestos al gel dental a base de los aceites esenciales bajo investigación.	mg/mL.

Fuente: Elaboración propia

3.4.2. Variables no implicadas

3.4.2.1. Variables intervinientes

➤ DE LA PLANTA

- Zona de recolección de muestras:
 - ✓ *Piper aduncum* (MATICO): La recolección de la especie vegetal se realizó en el distrito de Yanatile, provincia de Calca, departamento de Cusco.
 - ✓ *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO): La recolección de la especie vegetal se realizó en el distrito de Yanatile, provincia de Calca, departamento de Cusco.
- Temporada de recolección:
 - ✓ La especie vegetal *Piper aduncum* (MATICO) tiene una floración y fructificación generalmente durante todo el año, por lo que se optó recolectar en el mes de agosto. (77)
 - ✓ La especie vegetal *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO) florece durante casi todo el año, pero principalmente la cosecha se realiza de febrero a septiembre, por lo que se optó recolectar en el mes de agosto. (78)
- Horario de recolección:
 - ✓ La especie vegetal *Piper aduncum* (MATICO) se recolectó durante el día.
 - ✓ La especie vegetal *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO) se recolectó durante el día.
- Estructura de la planta a estudiar:
 - ✓ Se utilizó las partes aéreas de la planta *Piper aduncum* (MATICO).
 - ✓ Se utilizó los frutos, hojas de *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO).

➤ DE LA BACTERIA:

- Medio de cultivo: Cultivo caldo BHI, agar Mueller Hinton y agar sangre.
- Bacteria aislada: Cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, estandarizadas y certificadas.

3.5. Criterios de inclusión y exclusión

A. DE LA ESPECIE VEGETAL

Criterio de inclusión:

- Hojas verdes enteras y en buen estado de la especie vegetal *Piper aduncum* “Matico”.
- Frutos, hojas en buen estado de la especie vegetal *Citrus jambhiri* Lush “Limón Risso”.

Criterio de exclusión:

- Se descartaron muestras sucias, que poseían deterioro o mal estado, contaminadas con hongos de la especie vegetal *Piper aduncum* “Matico”.
- Se descartaron los frutos inmaduros, contaminados por hongos, en mal estado o las que estaban iniciando a deteriorarse, así como las hojas dañadas o contaminados de la especie vegetal *Citrus jambhiri* Lush “Limón Risso”.

B. DE LA BACTERIA

Criterio de inclusión:

- Cepa bacteriana de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en buenas condiciones, que cumplan con las características básicas de la cepa.

Criterio de exclusión:

- Se excluyó las cepas bacterianas que presentaron contaminación por hongos y otros microorganismos, placas Petri mal inoculadas donde no se observó crecimiento de la cepa.

C. DE LA FORMULACIÓN

Criterio de inclusión:

- Se trabajó con las formulaciones que cumplieron las características idóneas del control de calidad organoléptico, fisicoquímico y microbiológico.

Criterio de exclusión:

- No se trabajaron con las formulaciones que presentaron problemas en la homogeneidad, intolerantes al gusto y olor, pH incorrecto e inestabilidad.

3.6. Procedimiento general

Primero, se empezó con la recolección de las muestras vegetales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso”, seguidamente se procedió a la selección de las hojas y frutos respectivamente para luego enviar un ejemplar de cada especie vegetal para su clasificación taxonómica al Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD) – Arequipa.

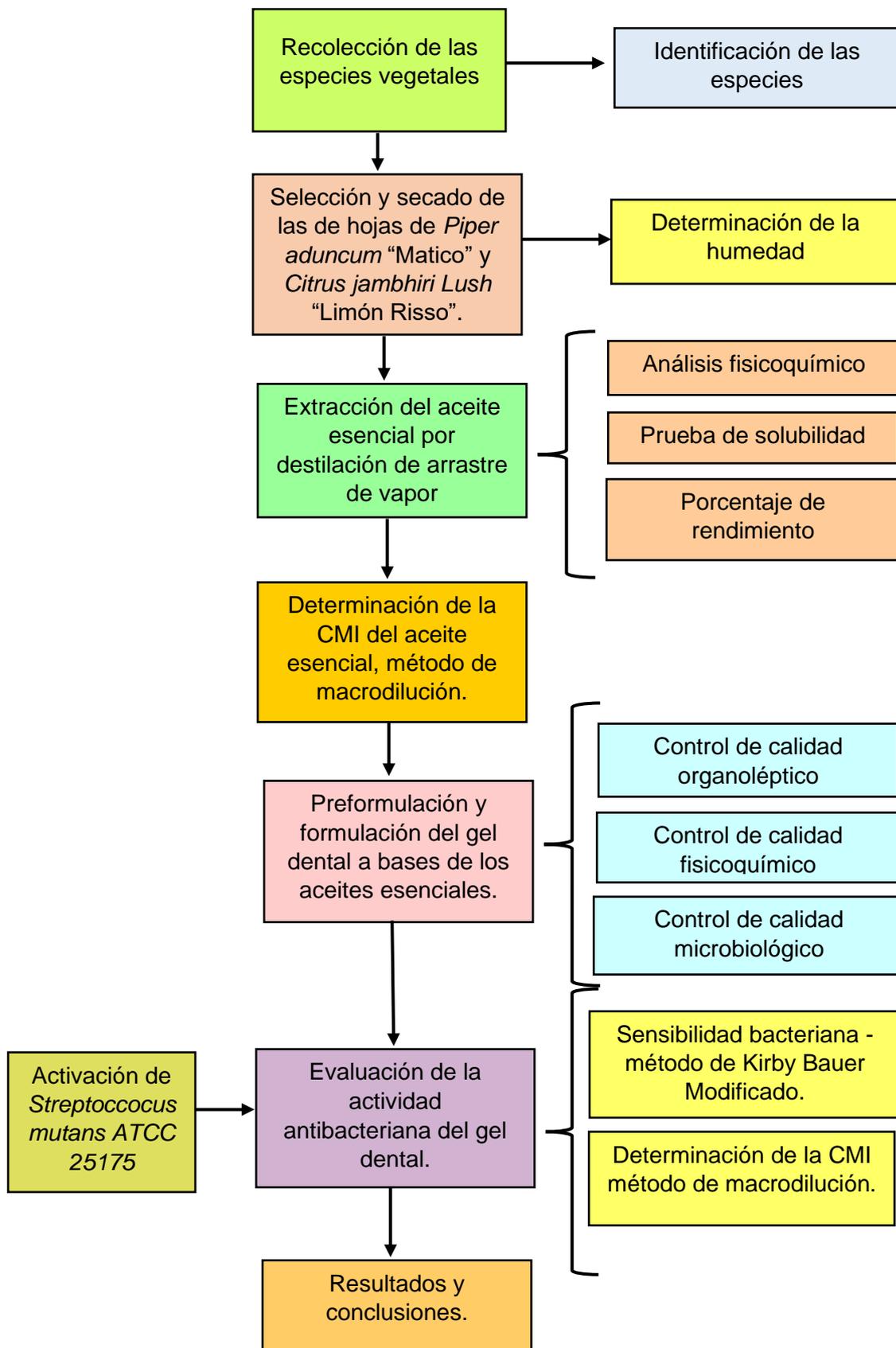
Luego se determinó el porcentaje de humedad de las muestras vegetales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso”, después se procedió a extraer los aceites esenciales por separado mediante el método de Destilación por Arrastre de Vapor, seguidamente se determinó el porcentaje de rendimiento, prueba de solubilidad, análisis organolépticos y fisicoquímicos y por último se determinó la composición de ambos aceites esenciales por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

Se realizó la activación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, con ello, mediante el método de macrodilución se realizó la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso”.

Después se elaboraron las preformulaciones de los geles dentales en base a la CMI de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso”, a diferentes concentraciones, donde solo se eligieron tres formulaciones teniendo en cuenta sus características organolépticas, a dichas formulaciones se realizaron el control de calidad organoléptico, fisicoquímico y microbiológico.

Por último, se evaluó la actividad antibacteriana del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso” frente a la cepa en estudio, dicha evaluación se realizó mediante dos técnicas, la primera fue a través del método de Kirby Bauer Modificado, en el cual se determinó la sensibilidad bacteriana y el segundo fue el método de Macrodilución, en el que se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI). Finalmente se determinó el sinergismo entre ambos aceites esenciales mediante el cálculo del índice de fraccionamiento inhibitorio combinado (FICI). El detalle del procedimiento general que se siguió en la investigación se presenta en el flujograma N°1.

Flujograma N° 1. Procedimiento general de la investigación



Fuente: Elaboración propia

3.6.1. Preparación de la muestra vegetal

- **RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL:** Se realizó la recolección de las especies vegetales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Risso”, en el distrito de Yanatile, provincia de Calca, departamento de Cusco, a una altitud de 1124 msnm, en el mes de agosto, ambas muestras vegetales se preservaron en bolsas de polietileno transparente. Fueron identificadas botánicamente en el Herbario del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD) - Arequipa
- **SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS:** Se seleccionaron los mejores ejemplares de las muestras vegetales, hojas para la especie vegetal *Piper aduncum* “Matico”; frutos y hojas para la especie vegetal *Citrus jambhiri Lush* “Limón Risso”, se escogieron las partes no dañadas, libres de hongos y enfermedades.
- **LAVADO:** Se realizó el lavado de las muestras vegetales con la finalidad de evitar residuos que alteren la calidad de la muestra y que dañen los resultados obtenidos. (79)
- **SECADO:** Las muestras vegetales se secaron sobre papel Kraft en mesas, en un ambiente ventilado, limpio a temperatura ambiente, protegidos del sol, según la presencia de humedad se fueron volteando y cambiando de papel. (79)

3.6.2. Determinación de porcentaje de humedad

La determinación del porcentaje de humedad se realizó por triplicado en placas Petri, donde se usó 5 gr de las hojas frescas de *Piper aduncum* “Matico” y en el caso de *Citrus jambhiri Lush* “Limón Risso”, se eligió hojas y frutos de tamaño regular con un peso semejante, posteriormente las muestras vegetales se introdujeron a la estufa a una temperatura de 40°C, hasta peso constante, finalmente se calculó el porcentaje de humedad con la siguiente expresión: (79)

$$\%H = \frac{P1 - P2}{P1}$$

Donde:

- ❖ %H = Porcentaje de humedad.
- ❖ P1 = Peso inicial de la muestra vegetal fresca.
- ❖ P2 = Peso de la muestra vegetal seca. (79)

3.6.3. Extracción del aceite esencial

El método que se empleó para la extracción de los aceites esenciales es la destilación por arrastre de vapor, un proceso que consiste en la separación a través del uso del vapor de agua, en el cual se vaporizan los componentes volátiles de la especie vegetal. (80)

A. PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE *Piper aduncum* “Matico”

1. Se acondicionó 1 kg de hojas secas de *Piper aduncum* “Matico” en el tanque del equipo de destilación.
2. Mediante el método de destilación por arrastre de vapor se procedió a la extracción del aceite esencial, durante un periodo de una hora.
3. El aceite esencial obtenido se decantó y almacenó a 4 °C. (80)

B. PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE *Citrus jambhiri Lush* “Limón Risso”

1. Se acondicionó 1 kg de rodajas del fruto y hojas de *Citrus jambhiri Lush* “Limón Risso” en el tanque del equipo de destilación.
2. Mediante el método de destilación por arrastre de vapor se procedió a la extracción del aceite esencial, durante un periodo de una hora.
3. El aceite esencial obtenido se decantó y almacenó a 4 °C. (80)

3.6.4. Determinación del porcentaje de rendimiento

Para la determinación del porcentaje de rendimiento se empleó 1 kg de hojas secas de *Piper aduncum* “Matico” y 1 kg del fruto seco en rodajas de *Citrus jambhiri Lush* “Limón Risso”. (81)

Seguidamente se empleó la siguiente expresión para el cálculo:

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{\text{Volumen (mL)}}{\text{Peso (gr)}}$$

Donde:

- ❖ %R= Porcentaje de rendimiento del aceite esencial
- ❖ V= Volumen obtenido del aceite esencial.
- ❖ P= Peso inicial de la muestra vegetal seca. (81)

3.6.5. Pruebas de solubilidad

Para realizar las pruebas de solubilidad se midió aproximadamente 1 mL del aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Risso”, los cuales se depositaron en distintos tubos de ensayo. A cada uno se le añadió 1 mL de los solventes

de diferentes polaridades, con el fin de evaluar su miscibilidad. (79) Los solventes utilizados se describen en la Tabla N° 3.6.

Tabla N° 3.6. Pruebas de solubilidad

SOLVENTE
Agua destilada
Metanol
Etanol al 70%
Etanol al 96%
Acetona
Acetato de etilo
Cloroformo
Bencina
Hexano
Tween 80

Fuente: Elaboración propia

3.6.6. Determinación de las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri* Lush “Limón Risso”

A. ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS

- **COLOR:** Se procedió a observar la tonalidad de los aceites esenciales a contraluz, al colocarlos en tubos de ensayo limpios, aproximadamente $\frac{3}{4}$ del tubo. (81)
- **SABOR:** Se tomó una muestra significativa de los aceites esenciales y a través del sentido del gusto se apreció qué sabor presentaba. (81)
- **OLOR:** Se procedió a oler la muestra de los aceites esenciales al introducir un papel secante de 1 cm de ancho y 10 cm de largo a un extremo de la muestra. (81)
- **ASPECTO:** Se analizó el aspecto externo de los aceites esenciales a través del análisis visual. (81)

B. ANÁLISIS FISCOQUÍMICO DEL ACEITE ESENCIAL

Para el análisis fisicoquímico de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso”, se consideraron los siguientes:

1. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD

Se determinó la densidad por el método picnómetro que consiste en la determinación de la masa de la unidad de volumen, expresada en g/mL. En el cual primeramente se procedió a pesar en la balanza analítica el picnómetro vacío y se anotó el peso (p), seguidamente se procedió a pesar el picnómetro con agua destilada lleno (p1) y los aceites esenciales (p2), a 20 °C. (82) Luego se determinó la densidad mediante la siguiente expresión:

$$P20 = 0.99718 (P2 - P) / (P1 - P)$$

Donde:

- ❖ P= Peso del picnómetro vacío.
- ❖ P1= Peso del picnómetro con agua destilada lleno a 20°C.
- ❖ P2= Peso del picnómetro con aceite esencial a 20°C. (82)

2. INDICE DE REFRACCIÓN

Se determinó el índice de refracción con el refractómetro digital, cuyo principio se basa en la relación aire sustancia, donde se comprueba la conexión entre la velocidad de luz a través de la sustancia y la velocidad de un rayo de luz en el vacío, el cual representa el grado de desviación que sufre un rayo de luz al pasar por el medio transparente y el otro de diferente densidad. Siendo su prioridad la detección de impurezas e identificación de sustancias para la evaluación de la calidad del aceite esencial. Para los aceites se debe de determinar a una temperatura de 25°C. (83)

3. ROTACIÓN ÓPTICA

Para la determinación de la rotación óptica se utilizó un Polarímetro, en el cual se halló el ángulo que gira el plano de polarización de una radiación luminosa a 589,3 nm +- 0,3 nm de longitud de onda, correspondiente a las líneas D del sodio, en el momento que atraviesa un espesor de 100 mm del aceite esencial en condiciones determinadas de temperatura generalmente a 20°C, el ángulo de rotación puede ser expresado en mili radianes o grados de ángulo. (84) Se empleó la siguiente expresión:

$$D = (A (^\circ) V (mL)) / (L(dm) P (g))$$

Donde:

- ❖ A= Ángulo de rotación observado
- ❖ V= Volumen de la solución
- ❖ L= Espesor atravesado
- ❖ P= Peso de la sustancia disuelta. (85)

4. ÍNDICE DE ACIDEZ

Se determinó el índice de acidez siguiendo el método descrito por AOAC International (2023) (Association of Official Analytical Chemists) para análisis de aceites esenciales. Para ello, se pesaron 5g de muestra (aceite esencial de Matico y aceite esencial de limón), luego se agregó 25 mL de alcohol neutralizado y 5 gotas de fenolftaleína, dicha mezcla se llevó a baño maría por un tiempo de 10 minutos, posterior a ello, se procedió a titular con KOH 0.1N hasta que logramos observar cambio de color. Para determinar el valor usamos la siguiente expresión:

$$\text{Índice de acidez} = \frac{V \times N \times 56.1}{P}$$

Donde:

- ❖ V = mililitros de la solución de álcali utilizados.
- ❖ N = Normalidad de la solución de KOH.
- ❖ P = Peso de la muestra en gramos.
- ❖ 56.1 = equivalentes de KOH. (86)

3.6.7. Determinación de la composición del aceite esencial por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas

Para el análisis de la composición química de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Risso”, se empleó el método de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, para lo cual se enviaron los aceites esenciales de las muestras vegetales al laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

3.6.8. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por macrodilución de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)

MÉTODO DE MACRODILUCIÓN

La técnica de la macrodilución se utiliza en cada combinación de un antibacteriano con una bacteria. Consiste en exponer las cepas bacterianas a diferentes concentraciones del antibacteriano, aplicando diluciones que reducen la concentración a la mitad en cada

paso. Luego, se observa el crecimiento de los microorganismos y se determina la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), que es la concentración más baja del antibacteriano que inhibe el crecimiento bacteriano. (87)

A. PROCEDIMIENTO DE MACRODILUCIÓN PARA EL ACEITE ESENCIAL DE *Piper aduncum* (MATICO)

Para realizar el procedimiento se llevó a cabo la activación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (Ver anexo N°3)

PREPARACIÓN DE LAS DILUCIONES DEL ACEITE ESENCIAL

- ✓ En el primer tubo de la serie de diluciones, se añadió 2 mL del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico) - Principio Activo.
- ✓ A los demás tubos se les agregó 1 mL de caldo BHI (Infusión Cerebro Corazón) esterilizado.
- ✓ Luego se tomó 1 mL (Aceite esencial de Matico) del primer tubo y se transfirió al segundo tubo utilizando una pipeta estéril.
- ✓ Después, se mezcló el contenido del segundo tubo.
- ✓ Con distintos tips (para cada transferencia), se tomó 1 mL del segundo tubo y se transfirió al tercer tubo.
- ✓ El proceso continuó siguiendo dichos pasos hasta llegar al penúltimo tubo, en el cual se retiró 1 mL y se desechó.
- ✓ El último tubo de la serie no recibió la solución del principio activo (aceite esencial de *Piper aduncum* "Matico"), por ello tuvo la función de servir como control para evaluar el crecimiento microbiano.
- ✓ Se prepararon 8 tubos (Tubo N°1 = 100% del aceite esencial en estudio; Tubo N°2 = 50%; Tubo N°3 = 25%; Tubo N°4 = 12,5%; Tubo N°5 = 6,25%; Tubo N°6 = 3,13%; Tubo N°7 = 1.56%; Tubo N°8 = Control negativo). (87)

PREPARACIÓN DEL INÓCULO BACTERIANO

- ✓ Se esterilizó la solución salina.
- ✓ En un tubo de ensayo se colocó 5 mL de solución salina, en el cual con ayuda de un asa estéril se inoculó el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, hasta llegar a un nivel de turbidez de 0,5 es decir (1×10^8 UFC/mL).
- ✓ A partir de ese tubo se empezó la dilución hasta llegar a una concentración final de 1×10^5 UFC/mL.
- ✓ Para ello utilizamos 3 tubos adicionales, cada uno con 9 mL de solución salina estéril.

- ✓ Del primer tubo con 5mL de solución salina y ajustado a 0,5 de la escala de Mc Farland, se tomó 1 mL y se transfirió al segundo tubo que contenía 9mL de solución salina (1×10^7 UFC/mL).
- ✓ Del segundo tubo se tomó 1mL y se transfirió al tercer tubo que también contenía 9mL de solución salina (1×10^6 UFC/mL).
- ✓ De ese tercer tubo se tomó también 1mL y se transfirió al cuarto tubo que previamente contenía 9mL de solución salina (1×10^5 UFC/mL).

COLOCACIÓN DEL INÓCULO EN LOS TUBOS CON CALDO BHI

- ✓ Se añadió 1mL del inóculo estandarizado a (1×10^5 UFC/mL) a cada uno de los tubos que contienen el caldo BHI y el aceite esencial de matico, así como al tubo de control de crecimiento bacteriano y se procedió a mezclar de manera uniforme.
- ✓ Es importante destacar que no debe transcurrir más de 15 minutos desde la preparación del inóculo hasta su incorporación en los tubos de ensayo. (87)

INCUBACIÓN

- ✓ Después del procedimiento anteriormente mencionado, se procedió a incubar los tubos de prueba que contenían el caldo BHI, el aceite esencial y el inóculo bacteriano.
- ✓ Se procedió a incubar a una temperatura de 37°C durante 24 horas. (87)

LECTURA E INTERPRETACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se refiere a la concentración más baja del principio activo en la cual no se observa ningún crecimiento y no se observa presencia de turbidez. (88) Después de las 24 horas de incubación, se procedió a observar la turbidez en cada uno de los tubos. En la Tabla N° 3.7 se detallan las concentraciones utilizadas del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico), expresadas en microlitros, según el volumen correspondiente para cada dilución evaluada.

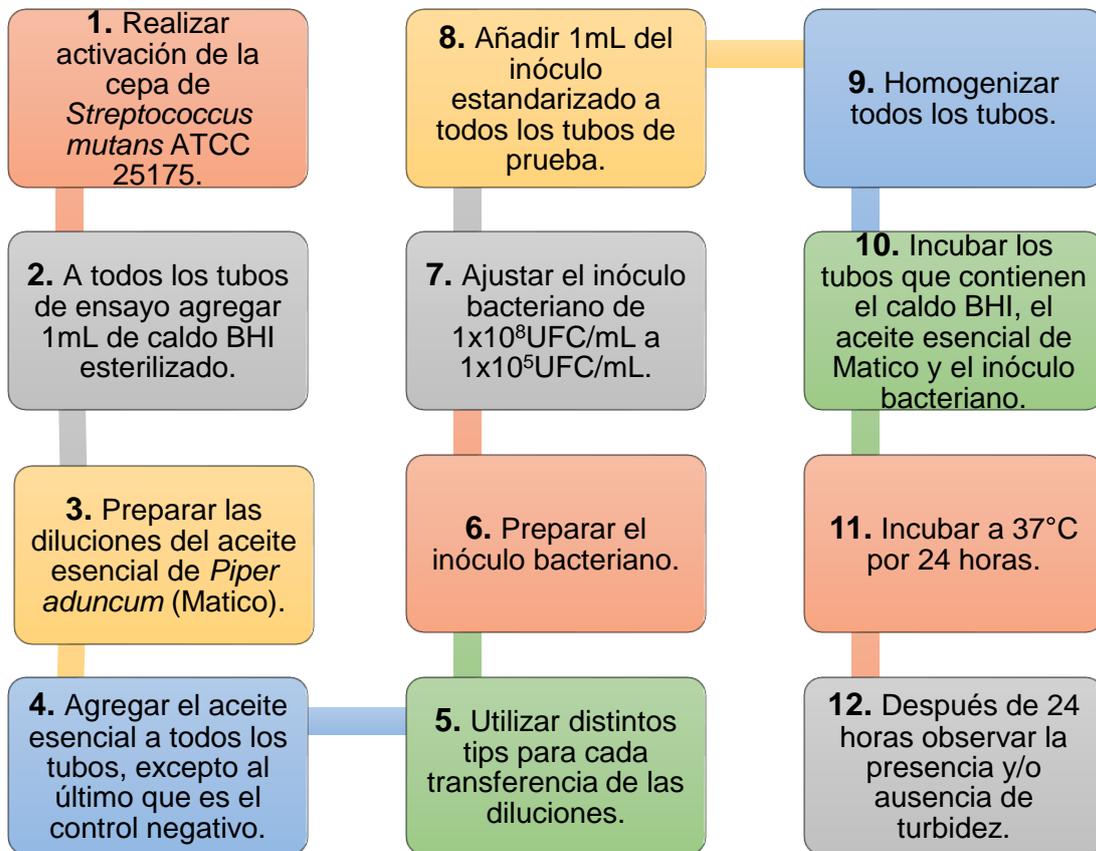
Tabla N° 3.7. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico)

Principio Activo	Concentraciones del aceite esencial (%)	Concentraciones del aceite esencial (uL)	Número de tubos para cada concentración
Aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> "Matico"	100%	1000 uL	3
	50%	500 uL	3
	25%	250 uL	3
	12.5%	125 uL	3
	6.25%	62.5 uL	3
	3.125%	31.25 uL	3
	1.56%	15.6 uL	3

Fuente: Elaboración propia

En el Flujograma N° 2 y la Figura N° 3 se detalla el procedimiento experimental realizado para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico) mediante la técnica de macrodilución.

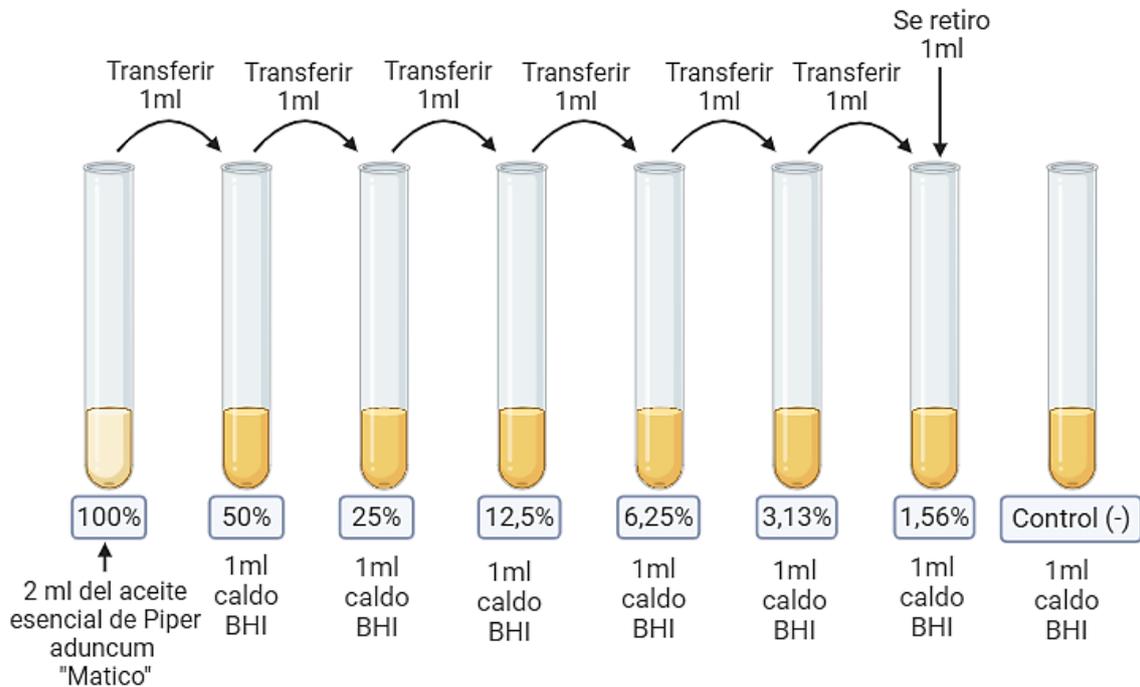
Flujograma N° 2. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico) por el método de macrodilución.



Fuente: Elaboración propia

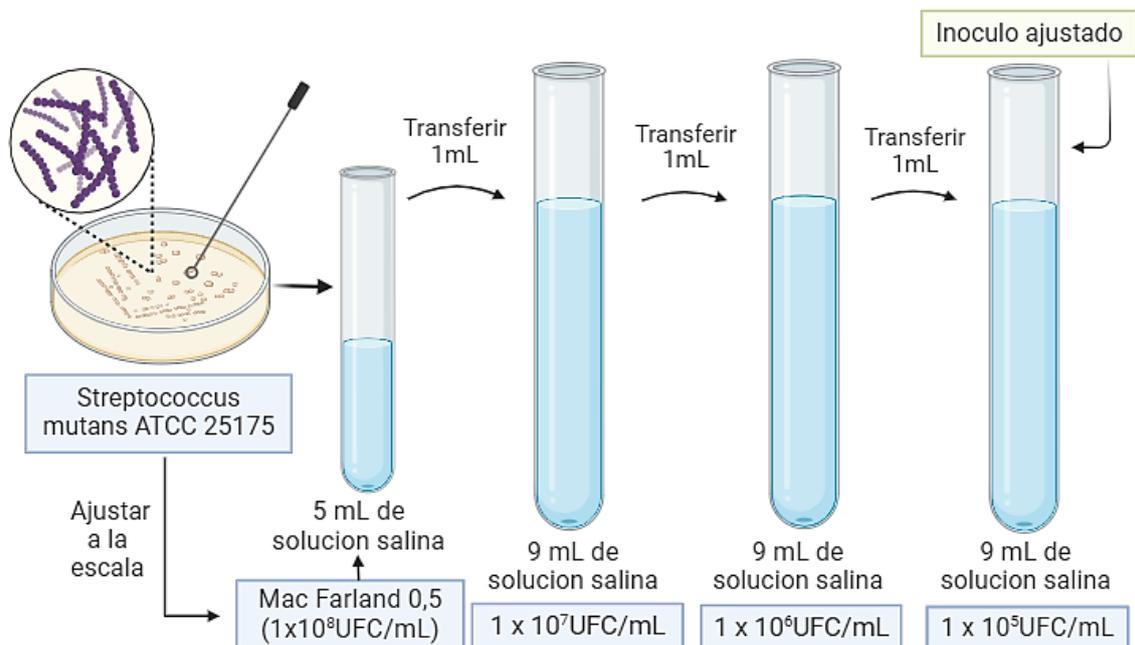
Figura N°3. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico) por el método de macrodilución.

1. Representación de la preparación de las diluciones del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico)



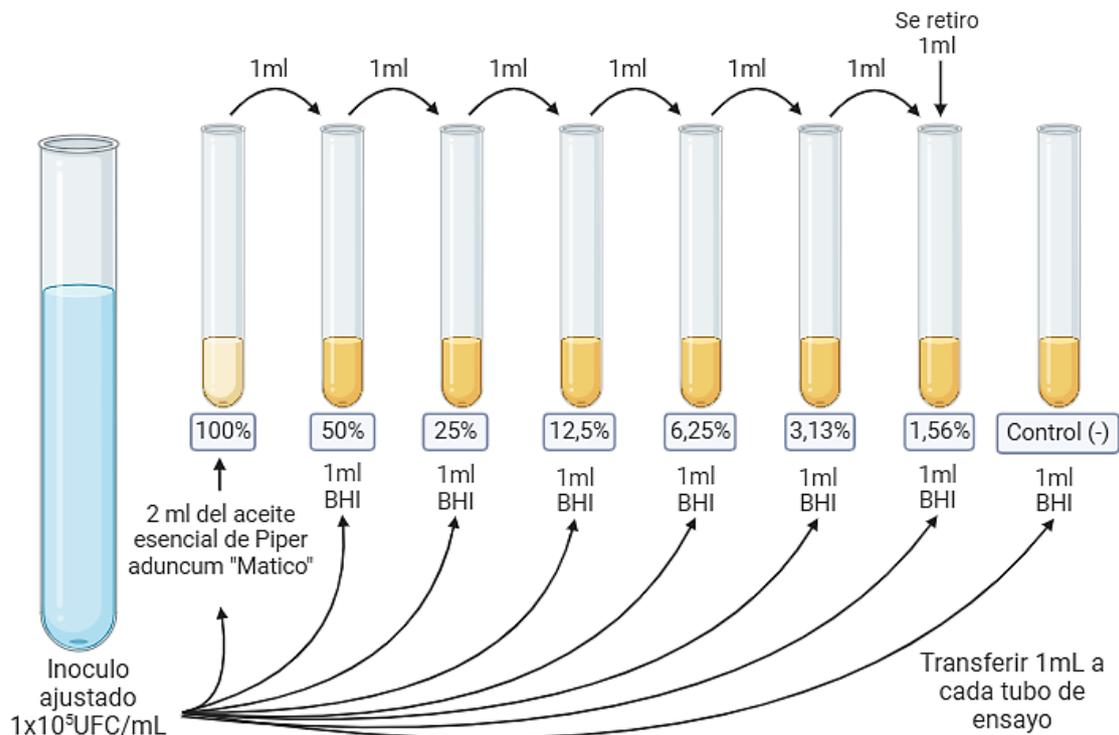
Fuente: Elaboración propia

2. Representación de la preparación del inóculo bacteriano ajustado



Fuente: Elaboración propia

3. Colocación del inóculo ajustado en los tubos con caldo BHI



Fuente: Elaboración propia

B. PROCEDIMIENTO DE MACRODILUCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus jambhiri* Lush (LIMÓN RISSO)

PREPARACIÓN DE LAS DILUCIONES DEL ACEITE ESENCIAL

- ✓ En el primer tubo de la serie de diluciones, se añadió 2 mL del aceite esencial de *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso) - Principio Activo.
- ✓ A los demás tubos se les agregó 1 mL de caldo BHI (Infusión Cerebro Corazón) esterilizado.
- ✓ Luego se tomó 1 mL (de aceite esencial) del primer tubo y se transfirió al segundo tubo utilizando una pipeta estéril.
- ✓ Después, se mezcló el contenido del segundo tubo.
- ✓ Con distintos tips (para cada transferencia), se tomó 1 mL del segundo tubo y se transfirió al tercer tubo.
- ✓ El proceso continuó siguiendo estos pasos hasta llegar al penúltimo tubo, en el cual se retiró 1 mL y se desechó.
- ✓ El último tubo de la serie no recibió la solución del principio activo (*Citrus jambhiri* Lush "Limón Risso"), por ello tuvo la función de servir como control para evaluar el crecimiento microbiano.

- ✓ Se prepararon 8 tubos (Tubo N°1 = 100% del aceite esencial en estudio; Tubo N°2 = 50%; Tubo N°3 = 25%; Tubo N°4 = 12,5%; Tubo N°5 = 6,25%; Tubo N°6 = 3,13%; Tubo N°7 = 1.56%; Tubo N°8 = Control negativo). (87)

PREPARACIÓN DEL INÓCULO BACTERIANO

- ✓ Se esterilizó cantidad necesaria de solución salina.
- ✓ En un tubo de ensayo se colocó 5 mL de solución salina, en el cual con ayuda de un asa estéril se inoculó el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, hasta llegar a un nivel de turbidez de 0,5 es decir (1×10^8 UFC/mL).
- ✓ A partir de ese tubo se empezó la dilución hasta llegar a una concentración final de 1×10^5 UFC/mL.
- ✓ Para ello utilizamos 3 tubos adicionales, cada uno con 9 mL de solución salina estéril.
- ✓ Del primer tubo con 5mL de solución salina y ajustado a 0,5 de la escala de Mc Farland, se tomó 1 mL y se transfirió al segundo tubo que contenía 9mL de solución salina (1×10^7 UFC/mL).
- ✓ Del segundo tubo se tomó 1mL y se transfirió al tercer tubo que también contenía 9mL de solución salina (1×10^6 UFC/mL).
- ✓ De ese tercer tubo se tomó también 1mL y se transfirió al cuarto tubo que previamente contenía 9mL de solución salina (1×10^5 UFC/mL).

COLOCACIÓN DEL INÓCULO EN LOS TUBOS CON CALDO BHI

- ✓ Se añadió 1mL del inóculo estandarizado a (1×10^5 UFC/mL) a cada uno de los tubos que contenían el caldo BHI y el aceite esencial de Limón Risso, así como al tubo de control de crecimiento bacteriano y se procedió a mezclar de manera uniforme.
- ✓ Es importante destacar que no debe transcurrir más de 15 minutos desde la preparación del inóculo hasta su incorporación en los tubos de ensayo. (87)

INCUBACIÓN

- ✓ Después del procedimiento anteriormente mencionado, se procedió a incubar los tubos de prueba que contenían el caldo BHI, el aceite esencial de limón risso y el inóculo bacteriano.
- ✓ Se procedió a incubar a una temperatura de 37°C durante 24 horas.

LECTURA E INTERPRETACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se refiere a la concentración más baja del principio activo en la cual no se observa ningún crecimiento y no se observa presencia de turbidez. (88) Después de las 24 horas, se procedió a observar la turbidez en cada uno de los tubos. En la Tabla N° 3.8 se detallan las concentraciones utilizadas del aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* (Limón risso), expresadas en microlitros, según el volumen correspondiente para cada dilución evaluada.

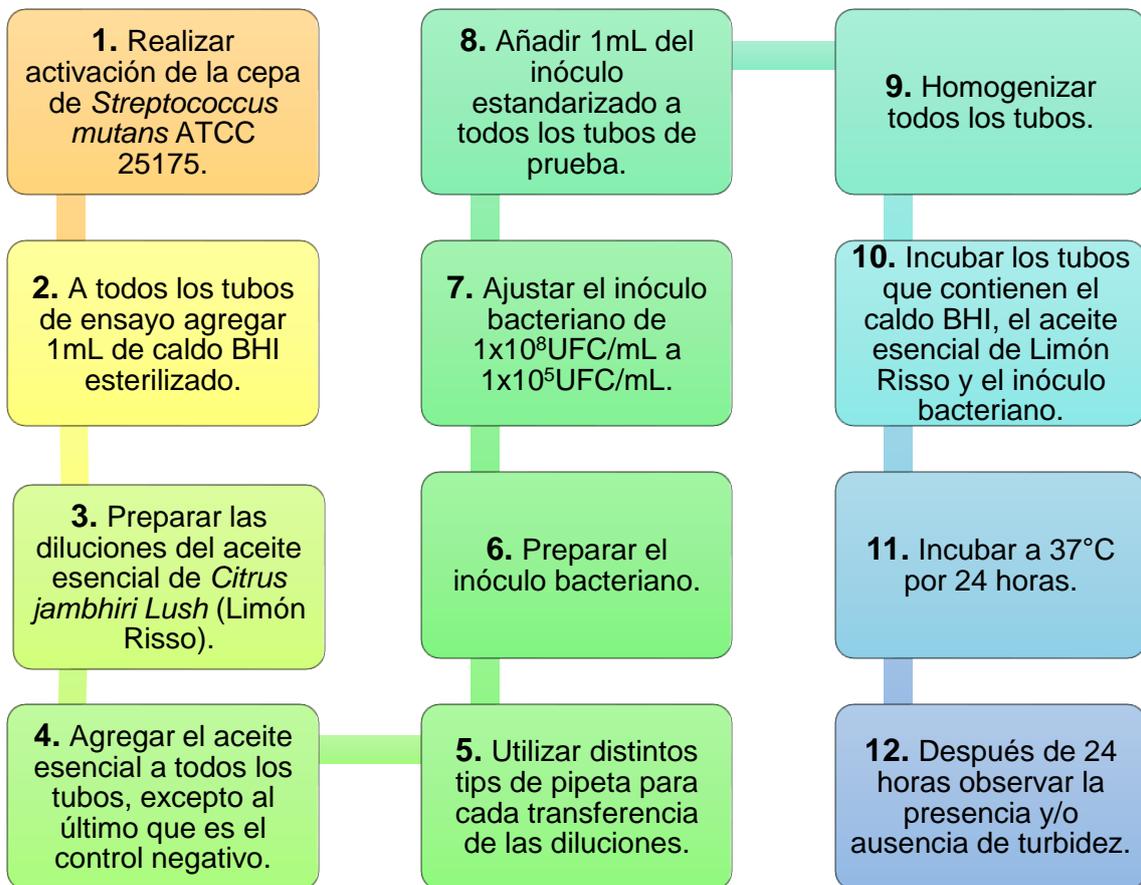
Tabla N° 3.8. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)

Principio Activo	Concentraciones del aceite esencial (%)	Concentraciones del aceite esencial (uL)	Número de tubos para cada concentración
Aceite esencial de <i>Citrus jambhiri Lush</i> "Limón Risso"	100%	1000 uL	3
	50%	500 uL	3
	25%	250 uL	3
	12.5%	125 uL	3
	6.25%	62.5 uL	3
	3.125%	31.25 uL	3
	1.56%	15.6 uL	3

Fuente: Elaboración propia

En el Flujograma N° 3 y la Figura N° 4 se detalla el procedimiento experimental realizado para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* (Limón risso) mediante la técnica de macrodilución.

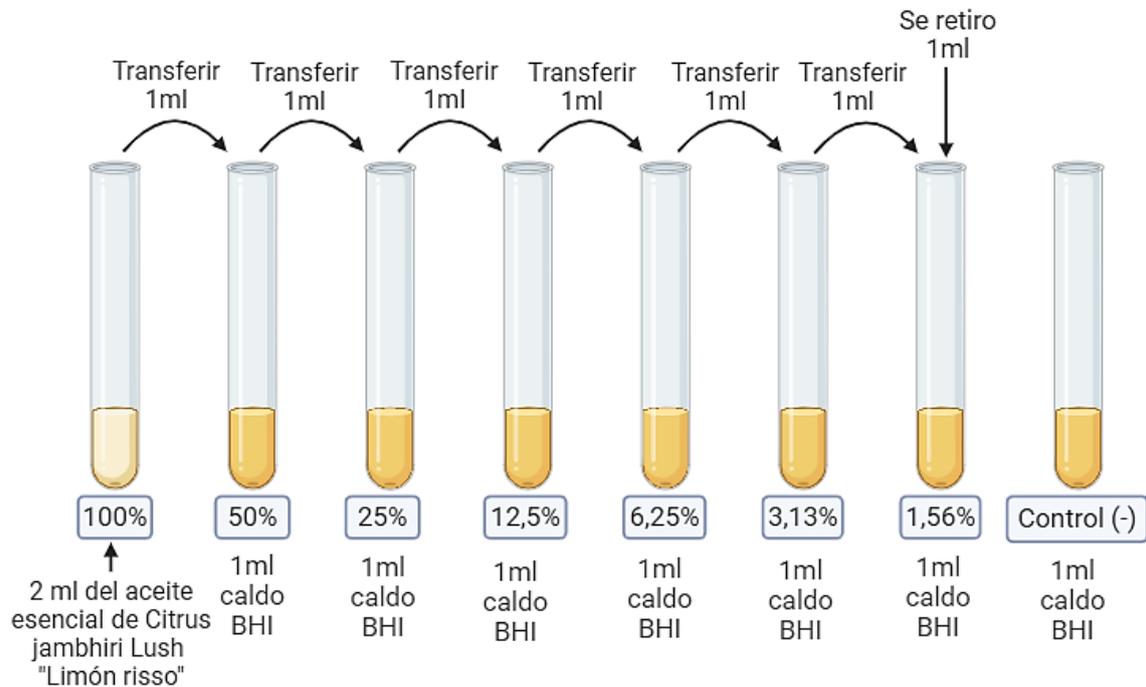
Flujograma N° 3. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso) por el método de macrodilución.



Fuente: Elaboración propia

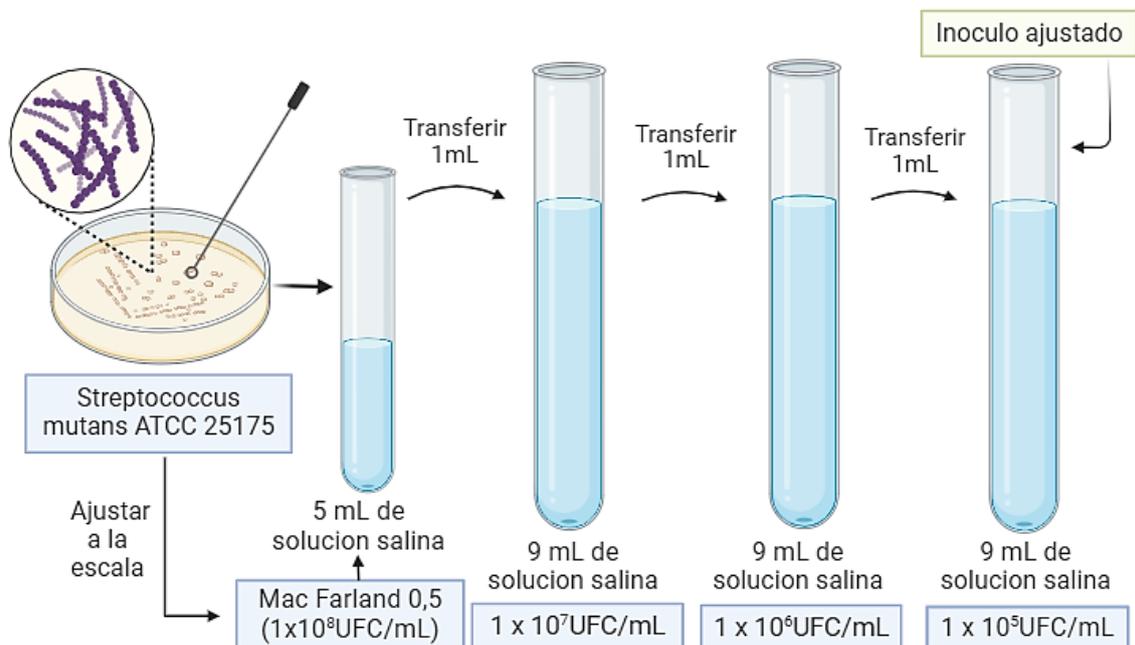
Figura N°4. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Citrus jambhiri* Lush (Limón Riso) por el método de macrodilución.

1. Representación de la preparación de las diluciones del aceite esencial de *Citrus jambhiri* Lush (LIMÓN RISSO)



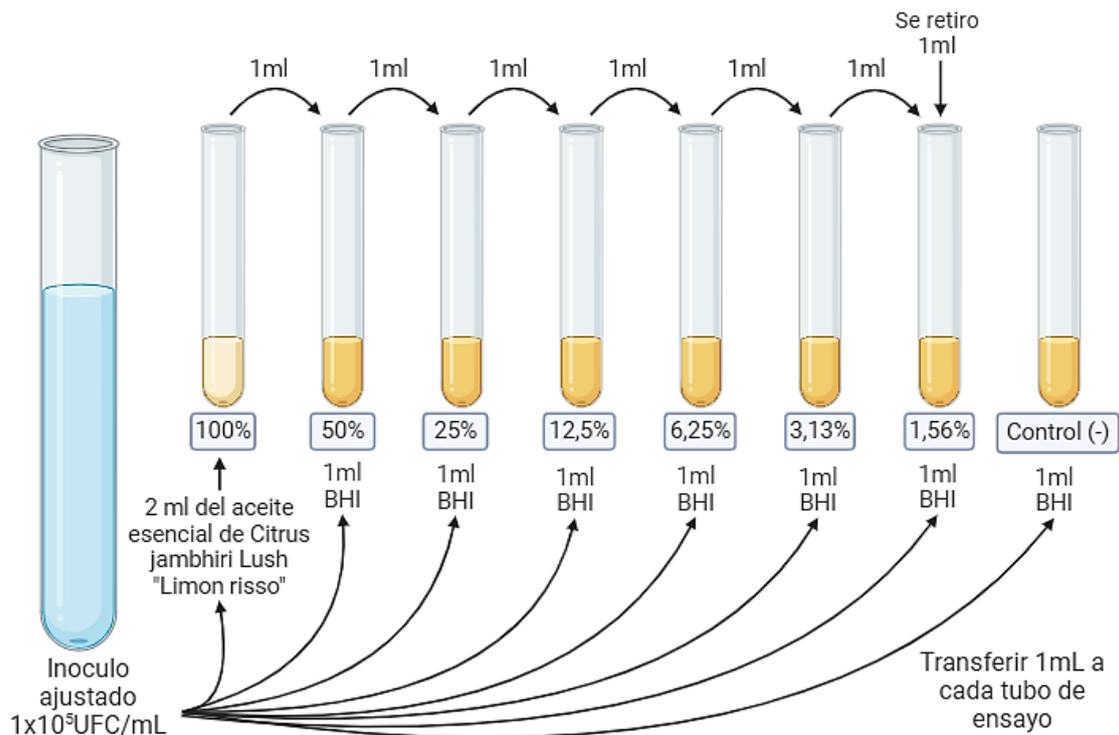
Fuente: Elaboración propia

2. Representación de la preparación del inóculo bacteriano ajustado



Fuente: Elaboración propia

3. Colocación del inóculo ajustado en los tubos con caldo BHI



Fuente: elaboración propia

3.6.9. Formulación y elaboración del gel dental de limpieza a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri* Lush “Limón Risso”

I. PREFORMULACION DEL GEL DENTAL DE LIMPIEZA

Se realizaron los ensayos de preformulación para obtener el gel dental ideal, durante esta etapa se seleccionaron los excipientes que serán compatibles con los aceites esenciales y que cumplan los requisitos establecidos. Asimismo, se tomó en cuenta las concentraciones mínimas inhibitorias de cada aceite que se determinó en el estudio de macrodilución y se procedió a formular los geles dentales.

Se considera como referencia la patente asiática creada por Karakoz (89) donde proporciona una composición que comprende:

- Extracto de una planta y aceite esencial que vendría a ser la sustancia activa en una proporción de 1 a 12% en mL en la composición total.
- Base del gel compuesta por la CMC sódica está en un intervalo de 1 a 20%
- Un agente plastificante (glicerina líquida) en una proporción hasta el 20%

- d) Un estabilizador de la formulación (Tween 80) en una proporción hasta el 12%
- e) NaOH 10% como regulador de la acidez.
- f) Edulcorante en un intervalo de 1 a 3%.
- g) Agua destilada que vendría a ser el disolvente, con una cantidad suficiente hasta el 100%

La composición de la presente invención consiste en los componentes a, b, c, d, e, f, y g, cuyos porcentajes suman por lo tanto 100.

II. FORMULACIÓN DEL GEL DENTAL DE LIMPIEZA:

De las preformulaciones que se realizaron; se tomaron diferentes cantidades dentro de los intervalos establecidos por la patente. La formulación final fue determinada considerando aquellas que presentaron mejores características fisicoquímicas y organolépticas, que además resultaron compatibles con los excipientes. En la tabla N° 3.9 se detalla la composición de los geles dentales.

Tabla N° 3.9. Formulación del gel dental de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri* Lush “Limón Riso”

Composición del gel dental de limpieza (100.0 g)

COMPONENTES DE LA FORMULACIÓN	PROPÓSITO	FORMULACIONES		
		G1	G2	G3
		1%	2%	3%
Aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> “Matico” (mL) y Aceite esencial de <i>Citrus jambhiri</i> Lush “Limón Riso” (mL) proporción 1:1	Sustancias activas	1 ml (0.5ml de Matico y 0.5ml de Limón Riso)	2 ml (1ml de Matico y 1ml de Limón Riso)	3 ml (1.5ml de Matico y 1.5ml de Limón Riso)
Carboximetilcelulosa (CMC) (g)	Base de gel	2	2	2
Glicerina (mL)	Agente plastificante	12	12	12
Tween 80 (g)	Estabilizador	2	2	2
NaOH 10% (mL)	Regulador de la acidez	-	-	-
Sorbitol (g)	Edulcorante	0.8	0.8	0.8
Stevia (g)	Edulcorante	3.2	3.2	3.2
Agua destilada (mL)	Disolvente	79	78	76.8

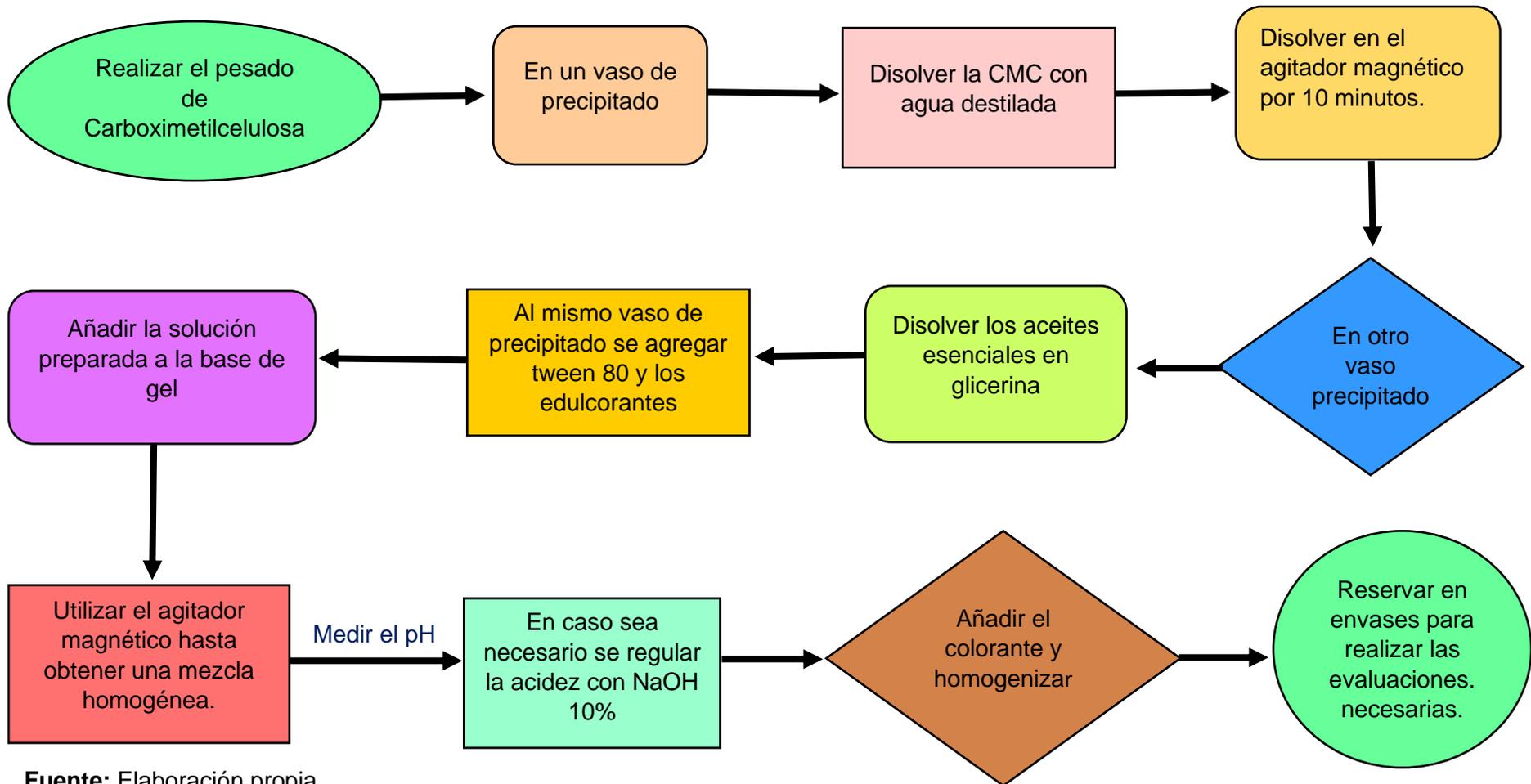
Fuente: Elaboración propia

MÉTODO OPERATIVO:

1. Se pesaron todos los insumos.
2. Se dispersó la Carboximetilcelulosa en un vaso precipitado con agua destilada y se procedió a agitar.
3. Se dejó espesar durante 15 a 20 minutos, luego se agitó la solución con el agitador magnético a 50 a 100 rpm hasta su completa disolución.
4. Se realizó la mezcla de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri* Lush “Limón riso” en una proporción de 1:1 de acuerdo a la determinación de la CMI de cada uno de los aceites esenciales.
5. Luego se añadió el aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri* Lush “Limón riso” a la glicerina en un vaso precipitado, al mismo vaso se agregó Tween 80, así como los edulcorantes como son el sorbitol y la Stevia. Se procedió a homogenizar.

6. Seguidamente la solución preparada se añadió a la base de gel.
7. Se homogenizó la mezcla con el agitador encendido a 100 rpm hasta obtener una mezcla homogénea.
8. Se agregó el colorante azul y se homogenizó.
9. Se midió el pH de cada formulación utilizando el pH-metro, el cual debió estar entre los valores de 6.0 – 7.0, en caso sea necesario se reguló la acidez con NaOH al 10%.
10. Se procedió a almacenar en envases bien protegidos de la luz hasta sus posteriores evaluaciones. (89) En el Flujograma N° 4 se resume el procedimiento de elaboración.

Flujograma N° 4. Elaboración del gel dental de limpieza a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri* Lush (Limón Riss)



Fuente: Elaboración propia

3.6.10. Control de calidad del gel dental

Para la correcta elaboración y control de calidad del gel dental, se preparó según la normativa del Decreto Supremo 021-2018-SA, Real Decreto 175/2001 y la USP <795>. (90)

La evaluación organoléptica y fisicoquímica del gel dental se realizó de acuerdo a la normativa establecida en la Farmacopea de los Estados Unidos USP 35 <1163> y la evaluación del control microbiológico se hizo según la USP <61> y USP <62> (examen microbiológico de productos no estériles: Pruebas para microorganismos específicos) (91), con la finalidad de asegurar que la población utilice productos de alta seguridad, calidad y eficaces para contribuir así a la prevención de enfermedades relacionadas con la cavidad bucal. (92)

3.6.10.1. Control de calidad organoléptico

Se realizaron pruebas para evaluar el color, el olor, sabor y consistencia del gel dental desarrollado a partir de los aceites esenciales de *Piper aduncum* "Matico" y *Citrus jambhiri* Lush "Limón risso".

1. **COLOR:** Se tomó una muestra en una placa de vidrio y se observó el color, seguidamente se anotó en la ficha de recolección de datos y se almacenó el gel dental para volver a analizarlo. Durante este tiempo el color debe de permanecer homogéneo en el gel dental y no se deberá de observar ninguna variación. (93)
2. **OLOR:** Se Introdujo una tira de papel en la muestra y se determinó las características del olor, seguidamente se anotó en la ficha de recolección de datos, se almacenó el gel dental y se volvió a realizar el análisis. Durante este tiempo el olor no debe de presentar variación. (93) (94) (95)
3. **SABOR:** Se tomó una muestra del gel dental y se procedió a identificar el sabor. El gel dental debe de presentar un sabor aceptable. (96)
4. **CONSISTENCIA:** Se agitó con una varilla de vidrio el gel dental en un recipiente y se volcó a otro recipiente para verificar su consistencia. Existen cuatro tipos de consistencia en los geles, en función de su resistencia al ser agitados con una varilla de vidrio. (93) (94)
 - *Consistencia fluida:* Estos geles apenas presentan resistencia al ser agitados y se pueden considerar prácticamente líquidos, se emplean como bases viscosizantes para la elaboración de suspensiones.
 - *Consistencia semifluida:* Presentan una resistencia ligera a la agitación y tienen una consistencia semejante a un jarabe.

- *Consistencia media*: Muestran una moderada resistencia a la agitación y tras su volcado hacia otro recipiente apenas carecen de movimiento. El gel dental elaborado debe de presentar este tipo de consistencia.
- *Consistencia alta*: Muestran una alta resistencia a la agitación y tras su volcado a otro recipiente carecen de movimiento. (93) (94)

3.6.10.2. Control de calidad fisicoquímico

- 1. COMPROBACIÓN DE LA HOMOGENEIDAD:** La prueba de la homogeneidad se realizó untando el gel dental en un trozo de vidrio, seguidamente se observó contra luz y se verificó la presencia de partículas o turbidez, así como la homogeneidad en el color. Durante la evaluación, el gel dental debe de presentar una disposición homogénea y no mostrar granos gruesos, materiales o partículas rugosas que puedan observarse contra la luz. La preparación del gel es homogénea cuando hay igualdad de color y la ausencia de partículas o materiales rugosos que puedan palparse. El requisito de la homogeneidad del gel pretende que los principios activos del gel se distribuyan uniformemente, para que no irrite la piel. Posteriormente, las formulaciones que presentan un aspecto aceptable se seleccionaron para su análisis posterior. (93) (95)

- 2. TRANSPARENCIA:** Se untó el gel dental en un trozo de vidrio para luego observar contra luz. Durante la evaluación el gel puede presentar una disposición translúcida o turbia. (95)

- 3. DETERMINACIÓN DE LA UNTABILIDAD (EXTENSIBILIDAD):** Para determinar la capacidad de dispersión, se colocó una muestra de 0,5 g sobre un trozo de vidrio y se esperó durante 1 minuto. Seguidamente, se midió el diámetro de la muestra. (93) A continuación, se añadió 1g, 2g, 5g, 10g y 20g de carga sucesivamente y se dejó reposar durante 1 minuto, luego se midió el diámetro correspondiente para cada pesa. La prueba de untabilidad del gel tiene por objeto determinar la capacidad de extender el gel cuando se aplica en la piel, además de ser una característica importante en la formulación porque afecta a la transferencia de ingredientes activos a la zona objetivo en la dosis correcta, la facilidad de uso, la presión necesaria para fuera del envase y la aceptación por los consumidores. (97)

- 4. MEDICIÓN DEL pH:** Los valores de pH de los geles dentales se midieron con un pH-metro. La medición del pH es un parámetro fisicoquímico importante en

los preparados tópicos porque el pH está relacionado con la eficacia de la sustancia activa, la estabilidad de la sustancia activa y el preparado, así como el confort en la piel durante su uso, un valor de pH demasiado ácido puede causar irritación, mientras que un pH demasiado alcalino puede provocar piel escamosa. (93) (95) El valor de pH se ajustó a los requisitos de calidad del gel dental, donde los valores ideales deben oscilar entre 6.0 - 7.0. (97) (98)

- 5. MEDICIÓN DE LA VISCOSIDAD:** La viscosidad se midió utilizando el Viscosímetro Anton Paar a temperatura ambiente y una velocidad adecuada, colocando 100 mL de gel dental en vaso precipitado de 250 ml. (93) (95) El gel dental no debe de presentar una viscosidad acuosa porque al sacarlo del tubo no formará un gel entero en un cepillo de dientes, ni una consistencia dura porque sería difícil sacarlo del tubo y extender perfectamente sobre el cepillo de dientes, por lo que el gel dental debe presentar una viscosidad semisólida. (97) (99)

- 6. PRUEBA DE ADHERENCIA:** La adhesividad del gel dental se determinó utilizando un método modificado según Nait et al., 2021; Zhang et al., 2019, donde el gel se adhirió a una superficie cerámica antes de añadir agua purificada gota a gota a las muestras, seguidamente se registró el tiempo de adhesión. La duración de la adhesión del gel dental a la superficie cerámica antes del lavado será definida como el tiempo de adhesión el cual deberá ser de 5-10 min. (95)

- 7. PRUEBA DE ESTABILIDAD ACELERADA:** Se procedió a centrifugar el gel dental durante 30 minutos a una velocidad de 3800 rpm. Al terminar la evaluación no se deben de observar cambios visibles en la forma, olor, el color y la homogeneidad del gel dental. Esta evaluación indica que la consistencia del gel dental es estable al almacenamiento. (93)

- 8. PRUEBA DE ESTABILIDAD:** Se comprobó la estabilidad de los geles dentales al almacenar a una temperatura y humedad de $40 \pm 2^{\circ}\text{C}/75 \pm 5\% \text{ HR}$ (condiciones aceleradas) y $30 \pm 2^{\circ}\text{C}/75 \pm 5\% \text{ HR}$ (condiciones a largo plazo) durante seis meses, con intervalos de 2 meses, donde se procedió a observar si se producen cambios en las características fisicoquímicas como el pH, la viscosidad, la untabilidad. (97) Durante el periodo de almacenamiento se deben de mantener las condiciones adecuadas de conservación en recipientes limpios, secos, herméticos y protegidos de la luz. (95)

9. PRUEBA DE CALENTAMIENTO – REFRIGERACIÓN: En cada ciclo de calentamiento – enfriamiento, la temperatura se ajustó a 40°C durante 24 horas y a 4°C durante 24 horas. Las formulaciones optimizadas se almacenaron durante siete ciclos consecutivos, posteriormente se determinó el aspecto físico, el valor de pH y la viscosidad de los geles dentales. (95) Esta prueba demuestra el efecto de la temperatura en el gel dental durante el almacenamiento. Los valores obtenidos deben de permanecer dentro de los parámetros aceptables. (93)

3.6.10.3. Control de calidad microbiológico

La presencia de microorganismos en preparaciones farmacéuticas que no son estériles puede disminuir o incluso desactivar la efectividad terapéutica del producto, lo que puede tener consecuencias negativas para la salud de los pacientes.

La evaluación microbiológica de productos farmacéuticos no estériles se llevó a cabo siguiendo los procedimientos establecidos para las pruebas microbianas específicas. Los estándares de aceptación para productos farmacéuticos no estériles se basan en el recuento total de microorganismos aeróbicos (RTMA) y la cantidad de hongos filamentosos y levaduras (RTCHL), así como en la presencia de microorganismos específicos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Estos estándares se basan considerando un único resultado o el promedio de múltiples recuentos repetidos. El cumplimiento de estos criterios es esencial para garantizar la calidad y la seguridad de los productos farmacéuticos no estériles. (100)

PROCEDIMIENTO:

Se procedió de la siguiente manera: se tomó 10 gramos de la muestra de gel y se diluyó en 90 mililitros de solución salina estéril. Esta dilución (10^{-1}) se colocó en las placas estériles preparadas con agares específicos para cada microorganismo. Estas placas se incubaron a una temperatura de 37°C durante un periodo de 24 horas para Aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*, se incubó también a una temperatura de 25°C por un periodo de 7 días para hongos y levaduras. Todo el manejo de las muestras para el recuento de bacterias se llevó a cabo en una cámara de flujo laminar, asegurando condiciones de esterilidad. (101)

Después de que haya transcurrido el tiempo especificado, se procedió a examinar si los microorganismos crecieron o no. Los resultados se expresaron en Unidades Formadoras de Colonias por gramo (UFC/g). Estos resultados se compararon de acuerdo con la Farmacopea de los Estados Unidos <61>; <62>. Este proceso asegura

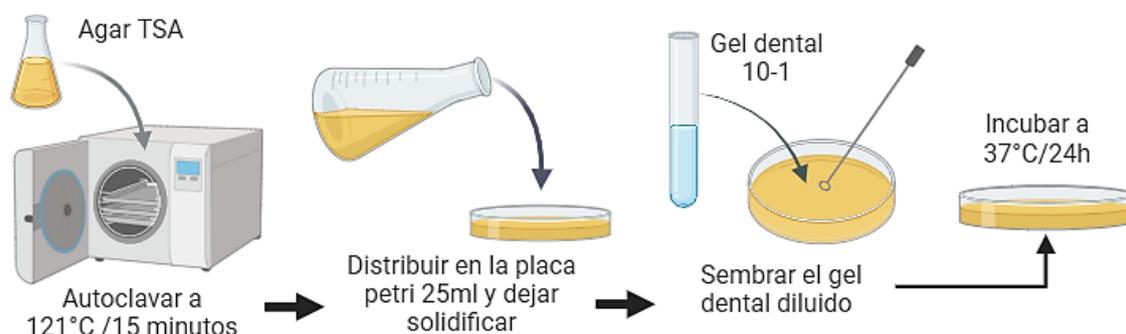
la calidad y la seguridad del gel dental en términos de presencia de microorganismos. (101)

A) DETECCIÓN DE AEROBIOS MESÓFILOS

Procedimiento:

1. Se preparó el Agar Tripteína soya (TSA) – (40g/1L)
2. Se pesó el agar TSA requerido y se disolvió con agua purificada, luego, en baño maría se llevó a ebullición durante 1 minuto hasta que se disuelva por completo para luego esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos.
3. Se procedió a distribuir en placas Petri previamente esterilizadas, 25 mL de agar TSA (templado a 40-45°C) y se dejó solidificar.
4. Se llevó a cabo la siembra de la dilución del gel dental haciendo uso de un asa de siembra por estrías hasta agotamiento en placas que contenían Agar TSA.
5. Luego se incubó las placas invertidas a 37°C durante 24 horas.
6. Una vez que pasó el tiempo de incubación, se procedió a observar si hubo crecimiento o no de aerobios mesófilos en el medio de cultivo. (102) El procedimiento se ilustra en la Figura N°5.

Figura N°5. Detección de aerobios mesófilos



Fuente: Elaboración propia

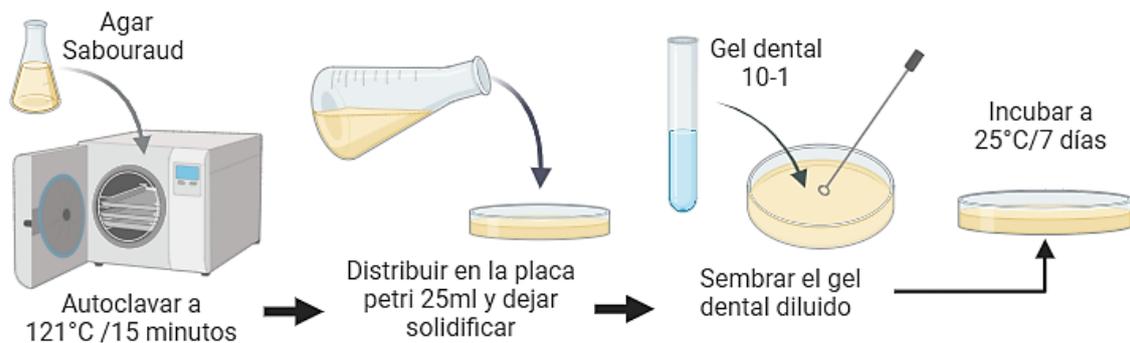
B) RECUENTO DE HONGOS Y LEVADURAS

Procedimiento:

1. Se preparó el Agar Sabouraud – (65g/1L)
2. Se pesó la cantidad de Agar Sabouraud requerido y se disolvió con agua purificada, en baño maría se llevó a ebullición durante 1 minuto hasta que se disuelva por completo para luego esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos.

3. Se procedió a distribuir aproximadamente 25 mL de agar sabouraud (templado a 40-45°C) en placas Petri previamente esterilizadas y luego de ello se dejó solidificar.
4. Se llevó a cabo la siembra de la dilución del gel dental haciendo uso de un asa de siembra por estrías hasta agotamiento en placas que contenían Agar Sabouraud.
5. Luego se incubó las placas Petri invertidas a 25°C por un periodo de 7 días.
6. Una vez que pasó el tiempo de incubación, se procedió a observar si hubo crecimiento o no de hongos y levaduras en el medio de cultivo. (102) El procedimiento se ilustra en la Figura N°6.

Figura N°6. Recuento de hongos y levaduras



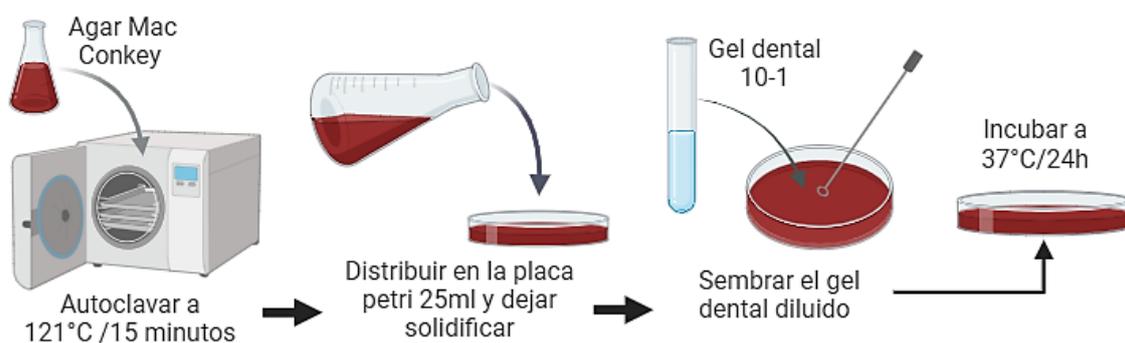
Fuente: Elaboración propia

C) RECuento DE ESCHERICHIA COLI

Procedimiento:

1. Se preparó el Agar Mac Conkey - (50g/1L)
2. Se pesó la cantidad necesaria del agar Mac Conkey y se disolvió con agua purificada, se llevó a ebullición por 1 minuto en baño maría hasta que se disuelva por completo para luego esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos.
3. Se procedió a distribuir en placas Petri previamente esterilizadas, 25 mL de agar Mac Conkey (templado a 40-45°C) y se dejó solidificar.
4. Se llevó a cabo la siembra de la dilución del gel dental haciendo uso de un asa de siembra por estrías hasta agotamiento en placas que contenían Agar Mac Conkey.
5. Luego se incubó las placas Petri invertidas por un periodo de 24 horas.
6. Una vez que pasó el tiempo de incubación, se procedió a observar si hubo crecimiento o no de *Escherichia coli* en el medio de cultivo. (102) El procedimiento se ilustra en la Figura N°7.

Figura N°7. Recuento de *Escherichia coli*



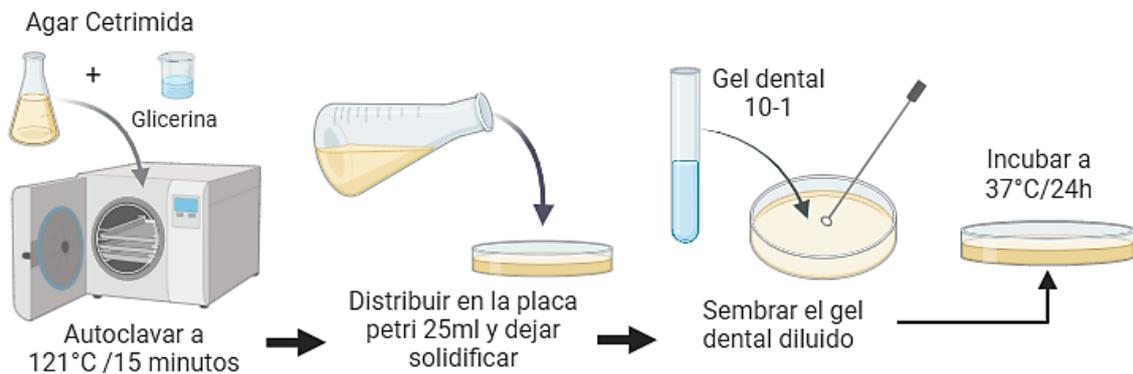
Fuente: Elaboración propia

D) RECuento DE PSEUDOMONA AERUGINOSA

Procedimiento:

1. Se preparó el Agar Cetrimida – (45,3g/1L) y agregar 10mL de glicerina.
2. Se procedió a pesar la cantidad de agar requerido y se disolvió con agua purificada.
3. En un baño maría, se llevó a ebullición por 1 minuto hasta que se disuelva por completo para luego esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos.
4. Se procedió a distribuir en placas Petri previamente esterilizadas, 25 mL de agar Cetrimida (templado a 40-45°C) y se dejó solidificar.
5. Se llevó a cabo la siembra de la dilución del gel dental haciendo uso de un asa de siembra por estrías hasta agotamiento en placas que contenían Agar Cetrimida.
6. Luego se incubó las placas Petri invertidas por un periodo de 24 horas.
7. Una vez que pasó el tiempo de incubación, se procedió a observar si hubo crecimiento o no de *Pseudomona aeruginosa* en el medio de cultivo. (102) El procedimiento se ilustra en la Figura N°8.

Figura N°8. Recuento de *Pseudomona aeruginosa*



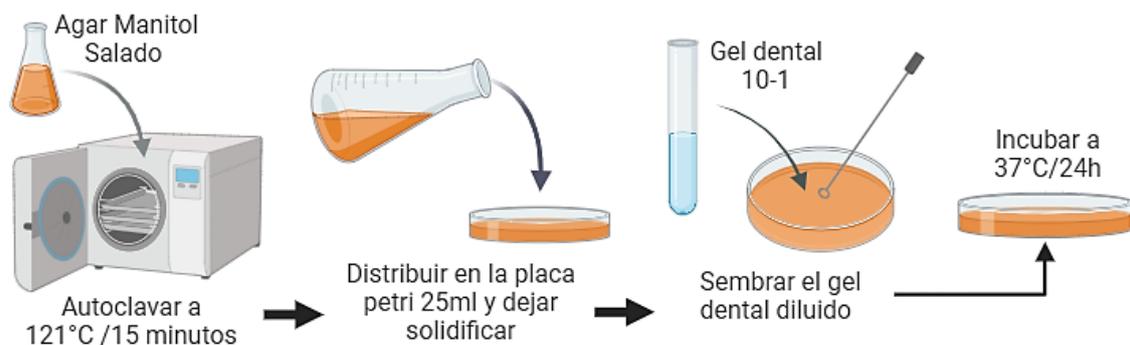
Fuente: Elaboración propia

E) RECuento DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Procedimiento:

1. Se preparó el Agar Manitol Salado – (111g/1L) Se procedió a pesar la cantidad necesaria del Agar Manitol salado y se disolvió con agua purificada.
2. En un baño maría, se llevó a ebullición por 1 minuto hasta que se disuelva por completo para luego esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos.
3. Se procedió a distribuir en placas Petri previamente esterilizadas, 25 mL de agar Cetrimida (templado a 40-45°C) y se dejó solidificar.
4. Se llevó a cabo la siembra de la dilución del gel dental haciendo uso de un asa de siembra por estrías hasta agotamiento en placas que contenían Agar Manitol Salado.
5. Luego se incubó las placas Petri invertidas por un periodo de 24 horas. Una vez que pasó el tiempo de incubación, se procedió a observar si hubo crecimiento o no de *Staphylococcus aureus* en el medio de cultivo. (102) El procedimiento se ilustra en la Figura N°9.

Figura N°9. Recuento de *Staphylococcus aureus*



Fuente: Elaboración propia

Los resultados microbiológicos obtenidos fueron evaluados de acuerdo con límites establecidos en la Tabla N° 3.10, la cual presenta los criterios de aceptación para la calidad microbiológica de formas farmacéuticas no estériles.

Tabla N° 3.10. Criterios de aceptación para la calidad de formas farmacéuticas no estériles.

ÁREA DE APLICACIÓN	MICROORGANISMOS	LÍMITES ACEPTABILIDAD
Productos que entran en contactos con las membranas mucosas.	Mesófilos aerobios totales	Límite máximos 5 x 10 ² UFC/g o mL.
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia del microorganismo en 1g o mL.
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia del microorganismo en 1g o mL.
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia del microorganismo en 1g o mL.
	<i>Hongos y levaduras</i>	Ausencia del microorganismo en 1g o mL.

Fuente: Farmacopea de los Estados Unidos (USP) <61>, <62>. (103)

3.6.11. Evaluación de la actividad antibacteriana del gel dental, sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, difusión en pozo (Kirby Bauer Modificado).

MÉTODO DE KIRBY BAUER MODIFICADO

El método es utilizado en investigaciones que tienen que ver con el crecimiento rápido de microorganismos, donde los datos recabados son de carácter cualitativo. Este método de antibiograma, fundamentado en la investigación realizada por Bauer Kirby y su equipo, es uno de los enfoques respaldados por el Comité Nacional de Estándares de Laboratorio (NCCLS) para analizar cómo las bacterias responden a los antibióticos. (62)

Se utiliza una base de sulfato de bario como una medida estándar de turbidez para determinar la densidad presente en el inóculo. Esta base equivale a un 0,5 en la escala de turbidez de McFarland, lo que se traduce en una concentración de 1.5 x 10⁸ UFC/mL. (62)

FUNDAMENTO: El método de difusión en pozos implica colocar diferentes tipos de antibióticos en los pozos realizados en el agar. El medio de cultivo debe ser inoculado

con el microorganismo en cuestión. Después de un período de incubación de 18 a 24 horas, es posible que los pozos estén rodeados o no por una zona donde se ha inhibido el crecimiento bacteriano. (62)

En este procedimiento, se inocula el microorganismo sobre la superficie del medio de cultivo, donde se crean pozos para colocar concentraciones específicas de antibióticos. Durante la incubación, el antibiótico se difunde radialmente desde el pozo a través del agar, lo que provoca que su concentración disminuya a medida que se aleja del pozo. En un punto determinado, la concentración del antibiótico en el medio ya no es capaz de inhibir el crecimiento del microorganismo en estudio. El diámetro del área de inhibición alrededor del pozo puede clasificarse en las categorías de: Resistente, sensible, muy sensible y altamente sensible. (104)

La elección del método de Kirby Bauer Modificado para evaluar la actividad antibacteriana del gel dental elaborado se justifica por las siguientes razones; el método de pozos permite depositar directamente el gel en cavidades de 6 mm de diámetro, evitando problemas de absorción incompleta en discos de papel filtro. Esto es crucial en formulaciones viscosas como geles, donde la liberación del principio activo podría verse limitada en discos. Es así que empleando dicho método se asegura una mejor difusión de los componentes activos. (62)

3.6.11.1. Procedimiento para la determinación de la actividad antibacteriana del gel dental elaborado con los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri* Lush “Limón Risso” sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

1. PROCESAMIENTO BACTERIOLÓGICO DE LAS MUESTRAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175: Las cepas se activaron en caldo BHI (Infusión cerebro corazón) mediante un proceso de incubación a una temperatura de 37°C durante un periodo de 24 horas. Para estandarizar la cepa, se utilizó la escala de McFarland 0.5 como referencia. Se tomó un asa estéril y se recogió colonias de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, las cuales se transfirieron a un tubo que contenía 5 mL de solución salina estéril. La densidad (turbidez) del inóculo se ajustó para que coincida con la turbidez de referencia de McFarland 0.5, lo que equivale a aproximadamente 1.5×10^8 UFC/mL. Luego, se procedió a realizar el cultivo en agar sangre y finalmente se replicó las cepas bacterianas mediante nuevos sembrados en agar sangre,

estas cepas replicadas se emplearon en la continuación de la investigación.
(105)

2. VALORACIÓN DE LA SENSIBILIDAD BACTERIANA de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, ANTE EL GEL DENTAL ELABORADO A BASE DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Piper Aduncum* “MATICO” y *Citrus jambhiri Lush* “LIMÓN RISSO”:

- ✓ Preparación del medio de cultivo (Agar sangre): Se procedió a pesar el Agar sangre en un Matraz, se añadió agua purificada para disolver, se llevó a baño maría para su completa disolución.
- ✓ Junto a los materiales a utilizar, el Agar sangre ya disuelto, se llevó a esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos.
- ✓ Pasado el tiempo indicado, se dejó enfriar a temperatura ambiente.
- ✓ Todo lo esterilizado se llevó a la cabina para realizar todo el procedimiento, así garantizar las condiciones óptimas de trabajo.
- ✓ Se realizó el procedimiento en presencia del mechero Bunsen, el cual nos permitió establecer un área de trabajo aséptico.
- ✓ Se verificó que el Agar Sangre esté a una temperatura de 40 – 45°C.
- ✓ Se procedió a extraer sangre, es necesario considerar de (5-10%) para garantizar el enriquecimiento del medio de cultivo. En este caso se empleó al 7%.
- ✓ Para evitar la coagulación de la sangre, se hizo uso de canicas y un vaso estéril, la sangre extraída se colocó en el vaso y se procedió a agitar, luego de ello, dicha sangre, se añadió al medio de cultivo autoclavado y se homogenizó.
- ✓ Se procedió a distribuir el medio de cultivo en placas Petri, se colocó aproximadamente 25 mL de agar en cada placa y se dejó solidificar.
- ✓ En caso hubiese aparición de burbujas en las placas, se procedió a eliminarlos flameando con el mechero Bunsen.
- ✓ Para el método de Kirby Bauer Modificado, se procedió a realizar pozos en el Agar Sangre ya solidificado, con la ayuda de una pipeta Pasteur esterilizado, dichos pozos tuvieron una medida de 6mm.
- ✓ Se realizó la preparación del inóculo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175: con la ayuda de un asa estéril se recogieron colonias y se colocaron en un tubo de ensayo con 5 mL de solución salina estéril y se ajustó a una turbidez de 0,5 de la escala de Mc Farland, que equivale a 1×10^8 UFC/mL.

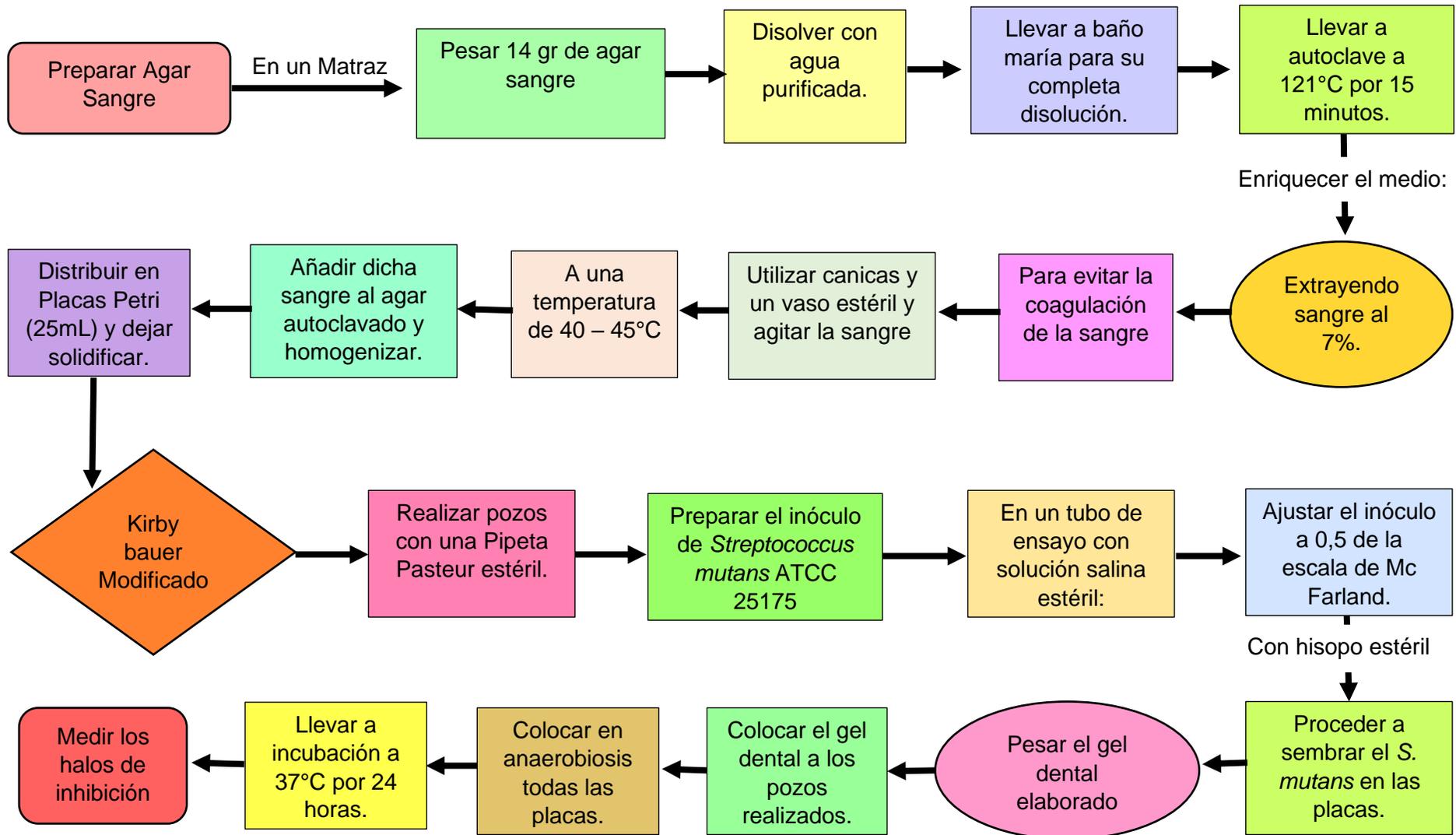
- ✓ Con ayuda de hisopos estériles, se procedió a sembrar el inóculo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en las placas Petri con medio de cultivo y pozos.
- ✓ Se pesó (65mg) del gel dental elaborado y del gel control (Colgate) y se colocaron en los pozos previamente realizados.
- ✓ Para los antibióticos control (Clindamicina y ciprofloxacino) no fue necesario realizar pozos, se hicieron uso de discos.
- ✓ Se procedió a colocar todas las placas en condición de anaerobiosis, para lo cual se hizo uso de un recipiente y velas; todas las placas previamente forradas con papel film, se ubicaron en el recipiente con velas encendidas y luego se procedió a cerrar el mismo.
- ✓ Después de completar el procedimiento se colocaron las placas en la incubadora a 37°C durante 24 horas.
- ✓ Una vez transcurrido el periodo de incubación, con la ayuda de un instrumento (vernier), se procedió a medir los halos de inhibición del gel dental elaborado, del control gel (gel dental de Colgate) y de los antibióticos (Clindamicina, Ciprofloxacino) expresados en milímetros (mm). (106)

Las medidas de los halos de sensibilidad obtenidas en el estudio se compararon con la escala de Duraffourd para evaluar la sensibilidad de la bacteria al gel dental elaborado a base los aceites esenciales de Matico y Limón risso, al gel dental control y a los antibióticos control. Según esta escala, las categorías son:

- Resistente (≤ 8 mm)
- Sensible (8 – 14 mm)
- Muy sensible (15 – 20 mm)
- Altamente sensible (>20 mm). (104)

El procedimiento se resume en el Flujograma N°5 y se muestra gráficamente en la Figura N°10.

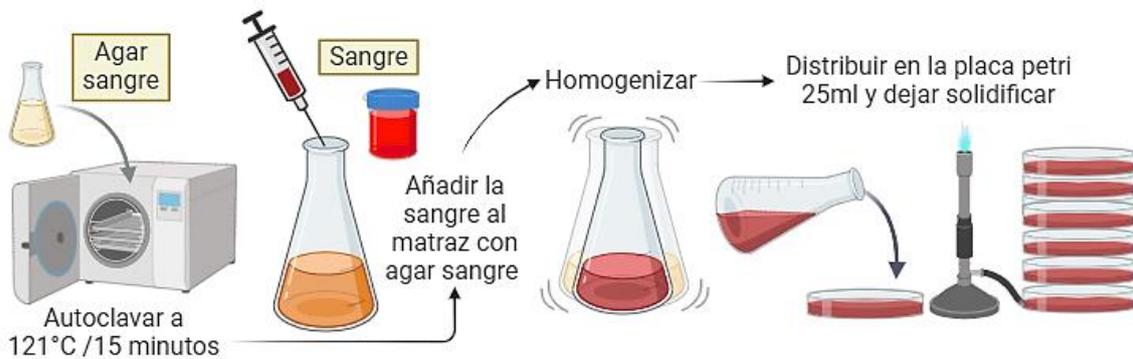
Flujograma N° 5. Determinación de la actividad antibacteriana del gel dental elaborado sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 por el método Kirby Bauer Modificado (difusión en pozos)



Fuente: Elaboración propia.

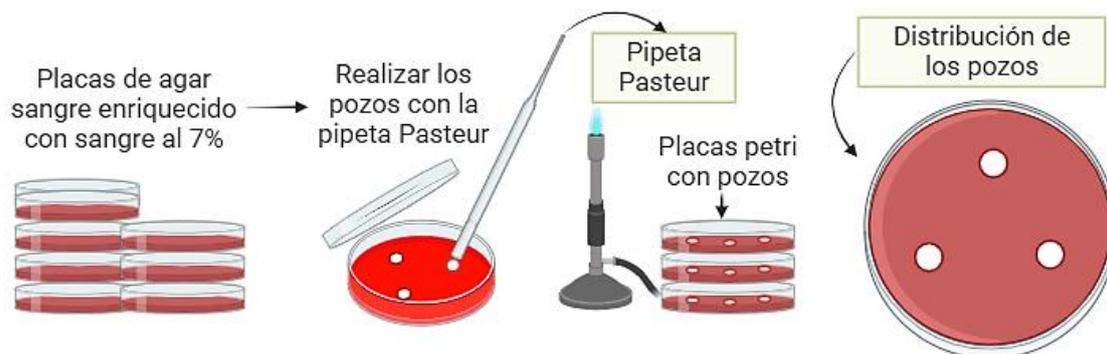
Figura N°10. Ensayo de la actividad antibacteriana del gel dental de limpieza formulado por el método de Kirby Bauer Modificado

1. Preparación del medio de cultivo



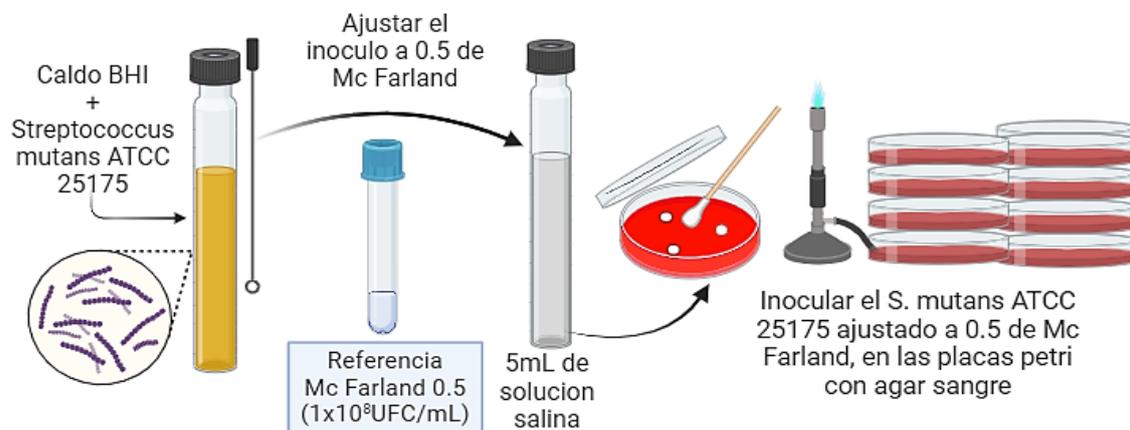
Fuente: Elaboración propia

2. Elaboración de los pozos en las placas Petri



Fuente: Elaboración propia

3. Procedimiento bacteriológico de las muestras de *Streptococcus mutans* ATCC 25175



Fuente: Elaboración propia

4. Valoración de la sensibilidad bacteriana de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, ante el gel dental de limpieza formulado



Fuente: Elaboración propia

3.6.12. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) por macrodilución del gel dental de limpieza elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) Y *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso)

MÉTODO DE MACRODILUCIÓN

La técnica de la macrodilución se utiliza en cada combinación de un antibacteriano con una bacteria. Consiste en exponer las cepas bacterianas a diferentes concentraciones del antibacteriano, aplicando diluciones que reducen la concentración a la mitad en cada paso. Luego, se observa el crecimiento de los microorganismos y se determina la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), que es la concentración más baja del antibacteriano que inhibe el crecimiento bacteriano. (87)

PREPARACIÓN DE LAS DILUCIONES DEL GEL DENTAL ELABORADO

- ✓ En el primer tubo de la serie de diluciones, se añadió 2 mL del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri* Lush (Limón risso) - Principio Activo.
- ✓ A los demás tubos se les agregó 1 mL de caldo BHI (Infusión Cerebro Corazón) esterilizado.
- ✓ Luego se tomó 1 mL (gel dental elaborado) del primer tubo y se transfirió al segundo tubo utilizando una pipeta estéril.
- ✓ Después, se mezcló el contenido del segundo tubo.
- ✓ Con distintos tips (para cada transferencia), se tomó 1 mL del segundo tubo y se transfirió al tercer tubo.
- ✓ El proceso continuó siguiendo estos pasos hasta llegar al penúltimo tubo, en el cual se retiró 1 mL y se desechó.

- ✓ El último tubo de la serie no recibió la solución del principio activo (gel dental elaborado), por ello tuvo la función de servir como control para evaluar el crecimiento microbiano.
- ✓ Se prepararon 8 tubos (Tubo N°1 = 100% del gel dental de limpieza; Tubo N°2 = 50%; Tubo N°3 = 25%; Tubo N°4 = 12,5%; Tubo N°5 = 6,25%; Tubo N°6 = 3,13%; Tubo N°7 = 1.56%; Tubo N°8 = Control negativo. (87)

PREPARACIÓN DEL INÓCULO BACTERIANO

- ✓ Se esterilizó la solución salina.
- ✓ En un tubo de ensayo se colocó 5 mL de solución salina, en el cual con ayuda de un asa estéril se inoculó el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, hasta llegar a un nivel de turbidez de 0,5 es decir (1×10^8 UFC/mL).
- ✓ A partir de ese tubo se empezó la dilución hasta llegar a una concentración final de 1×10^5 UFC/mL.
- ✓ Para ello utilizamos 3 tubos adicionales, cada uno con 9 mL de solución salina estéril.
- ✓ Del primer tubo con 5mL de solución salina y ajustado a 0,5 de la escala de Mc Farland, se tomó 1 mL y se transfirió al segundo tubo que contenía 9mL de solución salina (1×10^7 UFC/mL).
- ✓ Del segundo tubo se tomó 1mL y se transfirió al tercer tubo que también contenía 9mL de solución salina (1×10^6 UFC/mL).
- ✓ De ese tercer tubo se tomó también 1mL y se transfirió al cuarto tubo que previamente contenía 9mL de solución salina (1×10^5 UFC/mL).

COLOCACIÓN DEL INÓCULO EN LOS TUBOS CON CALDO BHI

- ✓ Se añadió 1mL del inóculo estandarizado a (1×10^5 UFC/mL) a cada uno de los tubos que contienen el caldo BHI y el gel dental elaborado, así como al tubo de control de crecimiento bacteriano y se procedió a mezclar de manera uniforme.
- ✓ Es importante destacar que no debe transcurrir más de 15 minutos desde la preparación del inóculo hasta su incorporación en los tubos de ensayo. (87)

INCUBACIÓN

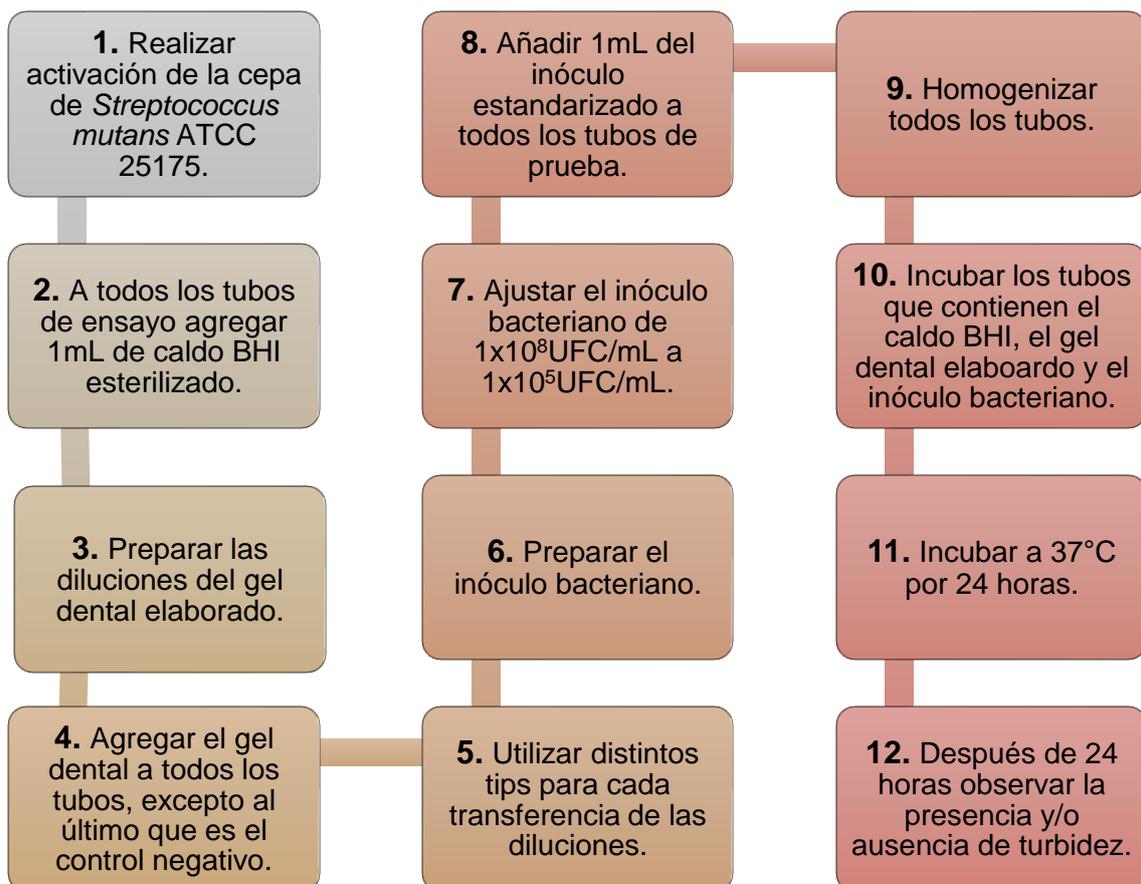
- ✓ Después del procedimiento anteriormente mencionado, se procedió a incubar los tubos de prueba que contenían el caldo BHI, el gel dental y el inóculo bacteriano.
- ✓ Se procedió a incubar a una temperatura de 37°C durante 24 horas. (87)

LECTURA E INTERPRETACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se refiere a la concentración más baja del principio activo en la cual no se observa ningún crecimiento y no se observa presencia de turbidez, se expresa en miligramos por mililitro (mg/mL). (88)

Después de las 24 horas de incubación, se procedió a observar la turbidez en cada uno de los tubos de ensayo. La ausencia de crecimiento bacteriano se confirmó mediante siembras en placas Petri correspondiente a las 8 diluciones del gel dental elaborado, con el fin de verificar la inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. El procedimiento completo para la determinación de la CMI mediante el método de macrodilución se resumen en el Flujograma N°6 y se representa visualmente en la Figura N°11.

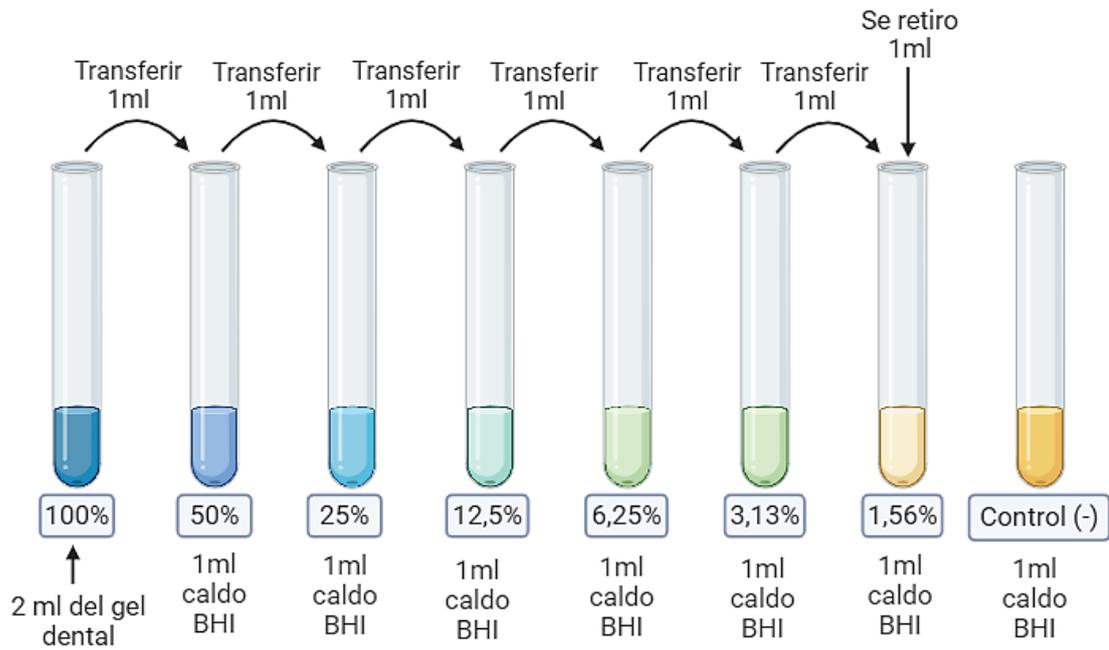
Flujograma N° 6. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso) por el método de macrodilución.



Fuente: Elaboración propia

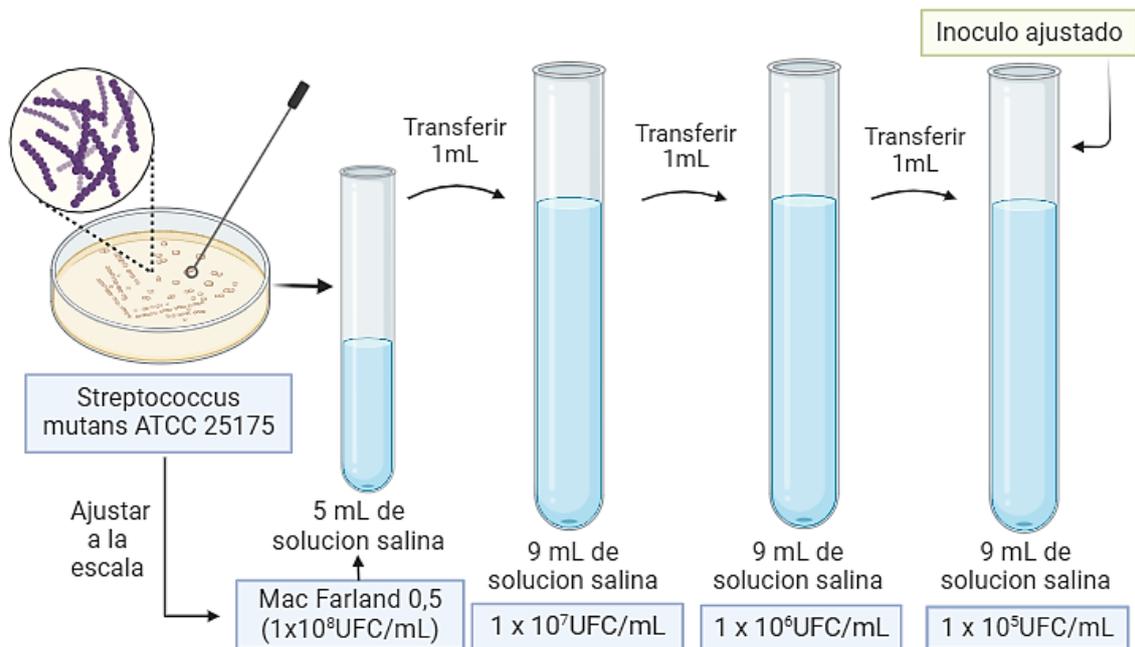
Figura N°11. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por macrodilución del gel dental elaborado

1. Representación de la preparación de las diluciones del gel dental formulado



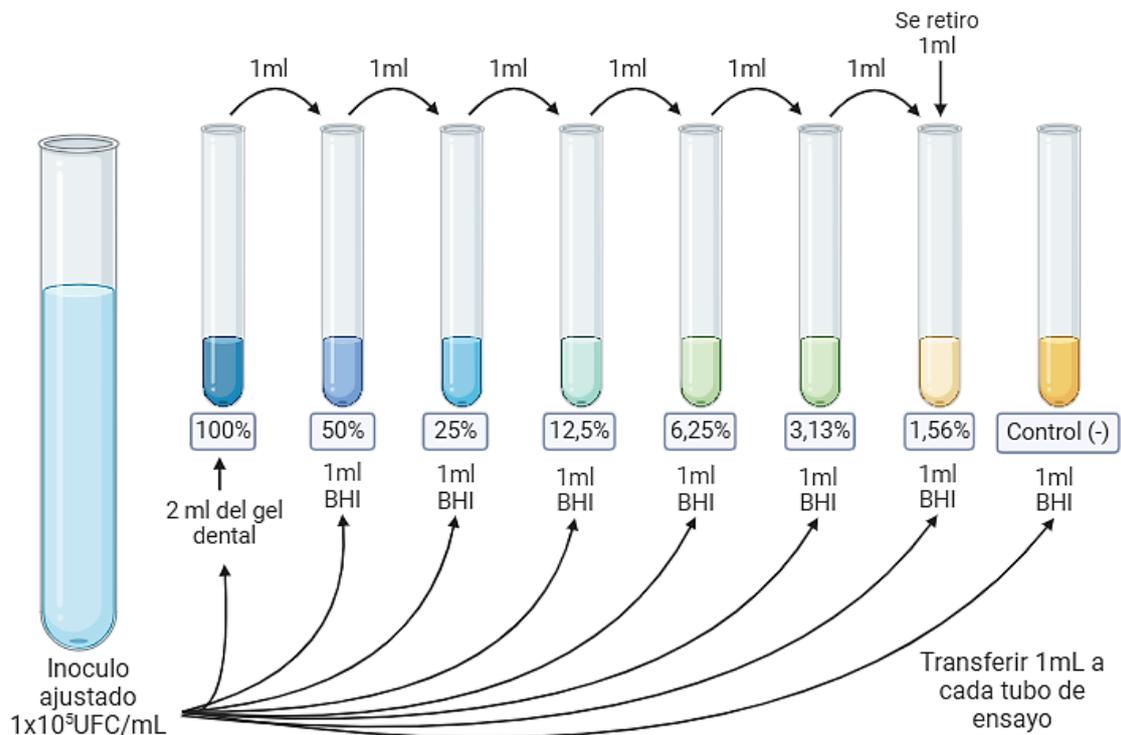
Fuente: Elaboración propia

2. Representación de la preparación del inóculo bacteriano ajustado



Fuente: Elaboración propia

3. Colocación del inóculo en los tubos con caldo BHI



Fuente: Elaboración propia

3.6.13. Determinación del efecto sinérgico en la actividad antibacteriana entre los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri* Lush (Limón risso)

El Índice de Concentración Inhibitoria Fraccionada, también conocido como (FICI) por sus siglas en inglés, es un parámetro cuantitativo que nos permite evaluar si la combinación de dos agentes antimicrobianos genera un efecto sinérgico, aditivo, indiferente o antagonista. (107)

- ✓ El procedimiento se llevó a cabo utilizando los valores obtenidos de la concentración mínima inhibitoria (CMI), tanto individual como en combinación, de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri* Lush (Limón risso).

Fórmula:

$$FICI = FIC A + FIC B$$

Donde:

$$FIC A = \frac{CMI \text{ de } A \text{ en combinación}}{CMI \text{ de } A \text{ individual}}$$

$$FIC B = \frac{CMI \text{ de } B \text{ en combinación}}{CMI \text{ de } B \text{ individual}}$$

Interpretación:

Según los criterios establecidos para el FICI:

- $FICI \leq 0.5 \rightarrow$ Sinergia (efecto combinado superior al individual)
- $0.5 < FICI \leq 1 \rightarrow$ Aditivo (efecto combinado similar al individual)
- $1 < FICI \leq 4 \rightarrow$ Indiferente (no hay interacción relevante)
- $FICI > 4 \rightarrow$ Antagonismo (el efecto combinado es menor al individual). (107)

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

En este estudio, se llevará a cabo la recopilación de información mediante las fichas de recolección que se detallan a continuación:

- ✓ Anexo N°5: Ficha de recolección de las especies vegetales.
- ✓ Anexo N°6: Ficha de recolección del porcentaje de humedad
- ✓ Anexo N°7: Ficha de porcentaje de rendimiento del aceite esencial
- ✓ Anexo N°8: Ficha de recolección de la prueba de solubilidad de los aceites esenciales
- ✓ Anexo N°9: Ficha de recolección de las características organolépticas y fisicoquímicas del aceite esencial
- ✓ Anexo N°10: Ficha de recolección de datos del control de calidad del gel dental elaborado
- ✓ Anexo N°11: Ficha de recolección de halos de inhibición del gel dental elaborado
- ✓ Anexo N°12: Ficha de recolección de datos de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *piper aduncum* (matico) según macrodilución. Concentración mínima inhibitoria
- ✓ Anexo N°13: Ficha de recolección de datos de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *citrus jambhiri lush* (limón risso) según macrodilución. Concentración mínima inhibitoria
- ✓ Anexo N°14: Ficha de recolección de datos de la actividad antibacteriana del gel dental elaborado según macrodilución. Concentración mínima inhibitoria

3.8. Técnicas de análisis de datos

Para procesar los datos obtenidos en la investigación se utilizó el software: Paquete estadístico Statistical Package For Social Sciences (SPSS) versión 25.0.

- Fue necesario el programa estadístico (SPSS) y el programa Microsoft Excel para crear una base de datos para el procesamiento de la información.
- Se empleó el análisis de varianza ANOVA y la prueba Post Hoc-Tukey.
- Se empleó el modelo estadístico ANOVA para llevar a cabo un análisis estadístico de los datos obtenidos sobre la sensibilidad de *Streptococcus mutans* frente al gel dental elaborado.

I. MEDIA O PROMEDIO

La media, también denominado promedio, se obtiene al dividir la suma total de un conjunto de números entre la cantidad de dichos números. Este valor representa el punto de equilibrio en una distribución y puede verse afectada por valores extremos, es así que ofrece una medida general de la tendencia central o el valor promedio de los datos. (108)

Para realizar el cálculo, se suman todos los valores del conjunto y se divide por la cantidad de datos. Algunas características fundamentales de la media son:

- ✓ Considera todos los valores del conjunto
- ✓ El numerador de la fórmula corresponde a la suma de valores.
- ✓ Puede no reflejar fielmente la muestra en presencia de valores extremos. (108)

II. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

El análisis de varianza (ANOVA) aborda en términos generales un conjunto de situaciones experimentales y métodos estadísticos destinados al análisis de respuestas cuantitativas de unidades experimentales. El escenario más básico de ANOVA, conocido como el análisis de varianza de un solo factor o diseño completamente al azar, se emplea para comparar dos o más tratamientos. En este enfoque, se contemplan únicamente dos fuentes de variabilidad: los tratamientos y el error aleatorio. (109)

ANOVA es una técnica estadística empleada para determinar si existen diferencias significativas en los resultados de una prueba. Dicha prueba nos permite evaluar si los resultados son lo suficientemente relevantes como para rechazar la hipótesis nula o aceptar la hipótesis alternativa. Es así que esta técnica nos permite determinar si las

diferencias en las medias entre los grupos que se está comparando son estadísticamente significativos o si, por el contrario, podrían ser producto del azar. (109)

III. PRUEBA POST HOC – TUKEY

Una vez que se identifican diferencias entre las medias, la prueba post hoc de rango permite establecer cuáles de ellas varían. Estas pruebas detectan subconjuntos de medias homogéneas que no presentan diferencias significativas entre sí.

La prueba de Tukey, el cual lleva el nombre de su creador John Tukey, es una herramienta estadística comúnmente empleada junto con el ANOVA. Dicha prueba es utilizada en experimentos que requieren múltiples comparaciones. Ayuda a determinar qué grupos presentan diferencias significativas entre ellos, disminuyendo así la probabilidad de cometer errores de Tipo I y ofreciendo también información clave para tomar decisiones fundamentadas e informadas. Es así que al momento de llevar a cabo pruebas post hoc, es crucial hacer ajustes para las comparaciones múltiples, tener en cuenta el tamaño del efecto y analizar los resultados dentro del contexto específico de la investigación. (110)

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Determinación del porcentaje de humedad

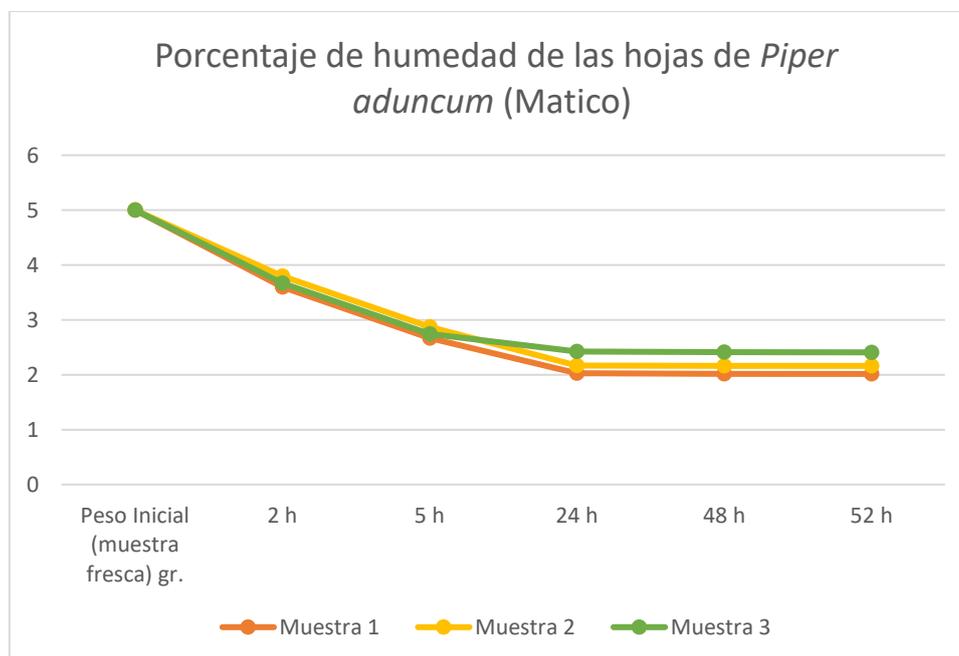
4.1.1. Determinación del porcentaje de humedad de las hojas de *Piper aduncum* (Matico)

Tabla N°4.1. Resultados del porcentaje de humedad de las hojas de *Piper aduncum* (Matico)

Muestras	Peso Inicial (muestra fresca) gr.	2 h	5 h	24 h	48 h	52 h	Porcentaje de humedad (%)
Muestra 1	5.001	3.596	2.665	2.025	2.016	2.015	59.71
Muestra 2	5.001	3.795	2.871	2.170	2.163	2.161	56.79
Muestra 3	5.000	3.668	2.743	2.422	2.413	2.408	51.84
Promedio de % de humedad de las hojas de <i>Piper aduncum</i> (Matico)							56.11

Fuente: Elaboración propia basada en datos experimentales del estudio.

Figura N°12. Porcentaje de humedad de las hojas de *Piper aduncum* (Matico)



Fuente: Elaboración propia basada en datos experimentales del estudio.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La tabla N° 4.1 presenta los resultados obtenidos sobre el porcentaje de humedad de las hojas de *Piper aduncum* (Matico), tras haber realizado el secado de las muestras en la estufa a una temperatura de 40°C hasta alcanzar un peso constante de las muestras,

obteniendo así un promedio de 56.11%. La figura N°12 nos muestra el proceso de secado de las plantas hasta obtener un peso constante.

Según el estudio de Olano Tirado Richard (2023), el porcentaje de humedad de la hoja de Matico fue de 78.37%, donde situaron sus muestras en una estufa a 103°C durante 4 horas, por tanto, el porcentaje de humedad de nuestro estudio es menor. (35)

Asimismo, en el estudio de Correa Palacios y Diaz Medina (2020) el porcentaje de humedad de *Piper aduncum* (Matico) fue de 66.1%, estas variaciones pueden atribuirse a la temperatura de secado y a la distinta ubicación geográfica de la planta estudiada. (37)

El porcentaje de humedad nos proporciona información esencial para el proceso de secado de la muestra, estabilizando el material en estudio. Este proceso interrumpe las reacciones enzimáticas y la degradación de los metabolitos, lo que ayuda a prevenir el crecimiento de bacterias, hongos y la descomposición, así como los procesos de oxidación que podrían comprometer la estabilidad de los metabolitos.

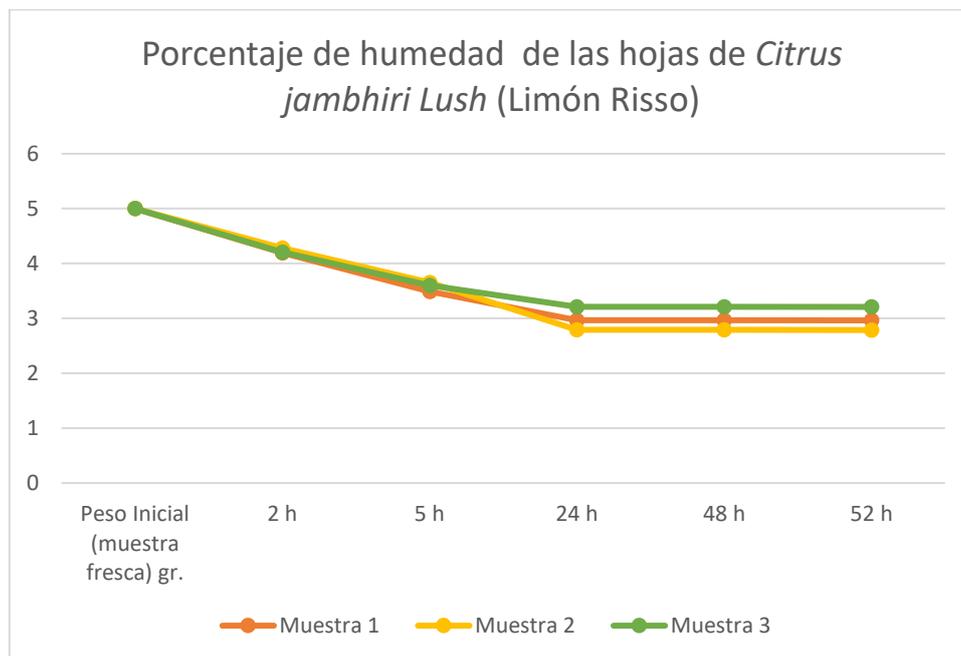
4.1.2. Determinación del porcentaje de humedad de las hojas de *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)

Tabla N° 4.2. Resultados del porcentaje de humedad de las hojas de *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)

Muestras	Peso Inicial (muestra fresca) gr.	2 h	5 h	24 h	48 h	52 h	Porcentaje de humedad (%)
Muestra 1	5.001	4.193	3.489	2.965	2.965	2.964	40.73
Muestra 2	5.000	4.281	3.654	2.791	2.791	2.788	44.73
Muestra 3	5.001	4.208	3.598	3.212	3.210	3.209	35.83
Promedio de % de humedad de las hojas de <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso)							40.43

Fuente: Elaboración propia basada en datos experimentales del estudio.

Figura N°13. Porcentaje de humedad de las hojas de *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso)



Fuente: Elaboración propia basada en datos experimentales del estudio.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N° 4.2, se presenta los resultados del porcentaje de humedad de las hojas de *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso), tras haber realizado el secado de las muestras en la estufa a una temperatura de 40°C hasta alcanzar un peso constante de las muestras, obteniendo así un promedio de 40.43%. Es así que el valor del contenido de humedad obtenido depende en gran medida del tipo de horno utilizado, las condiciones dentro de éste, el tiempo de secado y la temperatura aplicada. La figura N°13 nos muestra el proceso de secado de las hojas de limón risso hasta obtener un peso constante.

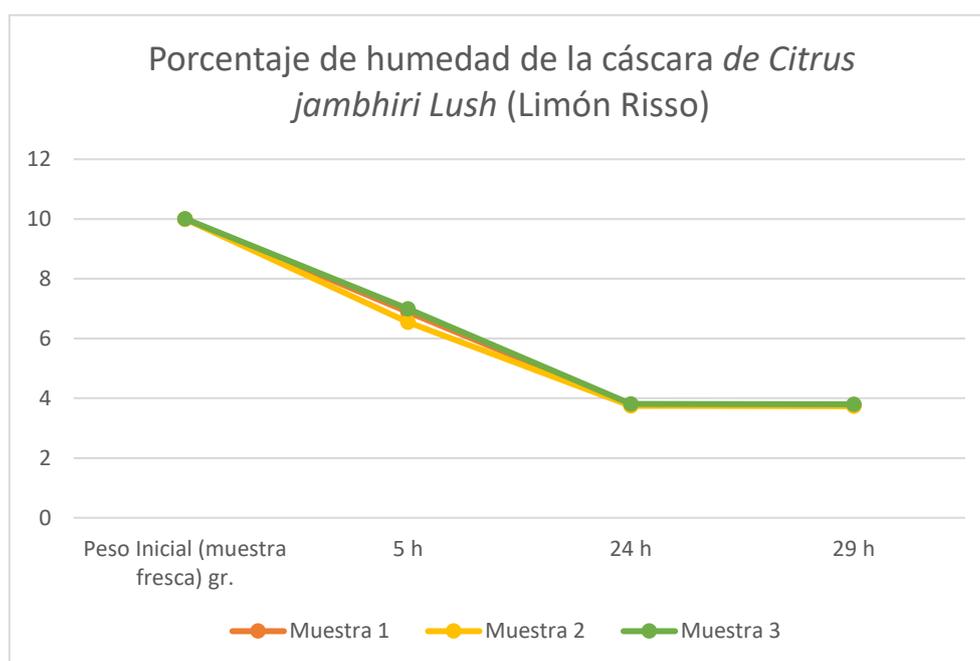
4.1.3. Determinación del porcentaje de humedad de la cáscara de *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)

Tabla N° 4.3. Resultados del porcentaje de humedad de la cáscara de *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)

Muestras	Peso Inicial (muestra fresca) gr.	5 h	24 h	29 h	Porcentaje de humedad (%)
Muestra 1	10.001	6.887	3.782	3.769	62.31
Muestra 2	10.003	6.544	3.749	3.735	62.66
Muestra 3	10.008	6.996	3.814	3.800	62.03
Promedio de % de humedad de la cáscara de <i>Citrus jambhiri Lush</i> (Limón Risso)					62.33

Fuente: Elaboración propia basada en datos experimentales del estudio.

Figura N°14. Porcentaje de humedad de la cáscara de *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)



Fuente: Elaboración propia basada en datos experimentales del estudio.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N° 4.3 se presenta los resultados del porcentaje de humedad de la cáscara de *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso), tras haber realizado el secado de las muestras en la estufa a una temperatura de 40°C hasta alcanzar un peso constante de las

muestras, obteniendo así un promedio de 62.33%. La figura N°14 nos muestra el proceso de secado de las cáscaras de limón risso hasta obtener un peso constante.

Según el estudio realizado por Pinto Alcon Omar (2020), el porcentaje de humedad de la cáscara de Limón fue de 74.28%, para dicha determinación hicieron uso de una balanza de humedad. Entonces, dicha variación puede ser debido al método utilizado para la determinación del porcentaje de humedad. (22)

4.2. Determinación del porcentaje de rendimiento de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)

Tabla N° 4.4. Resultados del porcentaje de rendimiento del aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Risso”

ESPECIE VEGETAL	CANTIDAD DE MATERIA PRIMA	CANTIDAD DE ACEITE ESENCIAL	PORCENTAJE DE RENDIMIENTO
<i>Piper aduncum</i> “Matico” Hojas, tallo y flores.	1668 gr	30 mL	1.79 %
<i>Citrus jambhiri Lush</i> “Limón risso” Hojas, tallo, flor y fruto verde de 4 cm de diámetro.	2205 gr	30 mL	1.36 %

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N° 4.4 se muestra que el porcentaje de rendimiento de los aceites esenciales obtenidos por el método de destilación por arrastre de vapor de las hojas, tallos y flores de la especie vegetal de *Piper aduncum* “Matico” fue de 1,79% y de las hojas, tallos, flor y fruto de la especie vegetal de *Citrus jambhiri Lush* “Limón risso” fue de 1.36%. Ambas especies vegetales muestran un porcentaje de rendimiento ligeramente alto lo cual indica que las dos plantas son buenas como materia prima, además de que este valor nos permitió determinar la cantidad de muestra vegetal seca que se necesitó para la extracción del aceite esencial y los diferentes ensayos del trabajo de investigación.

En la investigación de Ingaroca et al., 2019, obtuvieron un porcentaje de rendimiento del 1,1% v/p de hojas de *Piper aduncum* “Matico”. (40) Por otro lado, Fernández et al., 2024 mediante el método de Hidrodestilación extrajeron el aceite esencial de las hojas de *P. aduncum* durante dos horas y obtuvieron un porcentaje de rendimiento que no sobrepasó el 1.3%. (32) Urrunaga et al., 2022, al extraer el aceite esencial de la cáscara de *Citrus jambhiri*

obtuvieron un rendimiento de 0.72%. (45) En el estudio de Oluwasayo et al., 2019 (5) reportaron un rendimiento de 1,40% (p/v) de las cascarras del fruto del *Citrus jambhiri*. (21)

En nuestro trabajo el valor obtenido del rendimiento de *P. aduncum* fue 1,79%, superior a los reportados en estudios previos y del Limón risso 1,36% muy cercano a una investigación, esto puede deberse al estado de la materia vegetal ya que influye en la cantidad de aceite obtenido y la cinética de la extracción, incluso el tipo de material vegetal de la misma planta podrá presentar diferente cinética, otros factores que influyen son la procedencia geográfica del fruto, las condiciones de cultivo y el tiempo de destilación.

4.3. Pruebas de solubilidad de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) Y *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)

Tabla N° 4.5. Resultados de pruebas de solubilidad de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) Y *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)

SOLVENTE	ACEITES ESENCIALES	
	<i>Piper aduncum</i> (MATICO)	<i>Citrus jambhiri Lush</i> (LIMÓN RISSO)
Agua destilada	-	-
Metanol	+++	+++
Etanol al 70%	+	+
Etanol al 96%	++	++
Acetona	+++	+++
Acetato de etilo	++	++
Cloroformo	+++	+++
Bencina	+++	+++
Hexano	+++	+++
Tween 80	+++	+++

Fuente: Elaboración propia basada en datos experimentales del estudio.

LEYENDA:

- ⇒ Totalmente soluble: +++
- ⇒ Soluble: ++
- ⇒ Poco soluble: +
- ⇒ Insoluble: -

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N° 4.5 se muestran los resultados de las pruebas de solubilidad de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso) en diferentes

solventes, tanto polares como apolares. En dicha tabla se observa que nuestros aceites esenciales de Matico y Limón risso son insolubles en agua destilada, poco solubles en etanol al 70%, solubles en etanol al 96%, acetato de etilo y totalmente solubles en metanol, acetona, cloroformo, bencina, hexano y Tween 80.

Realizando la comparación con el estudio de Janampa Torres Ricardo (2023), se obtuvo resultados similares respecto a la solubilidad del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico), ya que dicho investigador llegó a la conclusión que el aceite esencial de matico es soluble en solventes como el cloroformo, soluble en mediana proporción en metanol y etanol e insoluble en agua. (38)

Respecto a la solubilidad del aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* (Limón risso), el investigador Tupayachi Palomino (2024), concluyó también que el aceite esencial de limón es soluble en solventes como el metanol, etanol, acetona, hexano y acetato de etilo e inmiscible en el agua. (42)

Del mismo modo, Guale Cabal Ariel y Mieles Burgos Jaison (2020), indicaron que el aceite esencial de *Citrus jambhiri* es soluble en etanol, con lo que afirman que, generalmente, los aceites esenciales tienen una solubilidad baja en agua y son completamente miscibles en etanol absoluto. Indican también que la evaluación del número de volúmenes de alcohol diluido necesarios para disolver completamente un volumen de esencia es una herramienta rápida para valorar su calidad, ya que los aceites esenciales que contienen una mayor cantidad de compuestos oxigenados tienden a ser más solubles en etanol diluido en comparación con aquellos que predominan en hidrocarburos terpénicos. (24)

Recordemos que la solubilidad de los aceites está relacionada con su estructura química. Estas están constituidas por largas cadenas de hidrocarburos no polares, lo que les permite disolverse fácilmente en disolventes no polares. (111)

Según nuestros resultados, se puede afirmar que los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón risso) son altamente solubles en solventes orgánicos.

4.4. Determinación de las propiedades organolépticas de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)

Tabla N° 4.6. Resultados de las propiedades organolépticas del aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Risso”

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	RESULTADOS	
	Aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> “Matico”	Aceite esencial de <i>Citrus jambhiri Lush</i> “Limón risso”
COLOR	Amarillo pálido	Ligeramente amarillento brillante
OLOR	Intenso de menta y alcanfor	Cítrico, fresco
SABOR	Astringente y picante	Cítrico no picante
ASPECTO	Líquido fluido	Líquido fluido

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N° 4.6 se muestran los resultados de la determinación de las características organolépticas de ambos aceites esenciales extraídos, donde el aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” presentó un color amarillo pálido, un olor intenso característico a matico, un sabor astringente - picante y un aspecto líquido fluido. Estas características organolépticas se deben a varios metabolitos secundarios presentes en su aceite esencial como el eucaliptol que son los principales responsables del olor intenso a menta y alcanfor, el sabor astringente y picante se debe principalmente a las sustancias amargas que posee como el metileugenol, cariofileno y los fenilpropanoides. (34)

En la investigación de Saravia y Vargas (2023) reportaron en la caracterización sensorial del aceite esencial de *Piper aduncum* un color amarillo transparente, un aspecto líquido aceitoso, un olor aromático y un sabor astringente, similar a nuestros resultados obtenidos. (34) Al comparar los resultados de las características organolépticas de nuestro aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico”, estos se encuentran dentro de los límites establecidos en las investigaciones previas ya mencionadas.

En cuanto al aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* “Limón risso” presentó un color ligeramente amarillo, un olor cítrico con emanación de frescura, un sabor a cítrico no picante y un aspecto líquido fluido. Estas características organolépticas se deben a sus metabolitos secundarios, principalmente al limoneno, un monoterpeno característico que se encuentra en altas concentraciones en esta especie vegetal, y es responsable del característico aroma y sabor a fresco y cítrico. Urrunaga et al., (2022) en la

determinación de las características organolépticas del aceite esencial de la cáscara de *Citrus jambhiri* describieron un color ligeramente amarillento, olor cítrico, fresco e intenso, sabor no picante y un aspecto líquido fluido, resultados similares a lo establecido por nuestra investigación. (45)

4.5. Determinación de las propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) Y *Citrus jambhiri Lush* (Limón Riso)

Tabla N° 4.7. Resultados de las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso”

PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS	MÉTODO DE ENSAYO DE REFERENCIA	RESULTADOS	
		Aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> “Matico”	Aceite esencial de <i>Citrus jambhiri Lush</i> “Limón riso”
pH	USP <791>	5	4.8
Densidad relativa (20°C)	NTP - ISO 279	0.9088 g/mL	0.8454 g/mL
Índice de refracción (20°C)	NTP - ISO 280	1.4999 nD	1.4711 nD
Rotación óptica	NTP 319.076	30 (D)	55.8 (D)
Índice de acidez	NTP 319.085	0.2244 mg KOH/g	1.3464 mg KOH/g

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La tabla N° 4.7 muestra los resultados de la determinación de las propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales de las plantas en estudio, para *Piper aduncum* “Matico” el pH fue de 5, la densidad 0.9088 g/ml, el índice de refracción 1.4999, la rotación óptica 30 (D) y el índice de acidez 0.2244. En un estudio previo realizado por Morocco Quispe, (2017) de las características fisicoquímicas del aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico”, obtuvo un pH de 5,15, densidad de 0,9278 g/ml a 20 C°, índice de refracción de 1.4872. (39) En contraposición Olano Tirado (2023), reportó un pH de 3,82 y una densidad de 0.841. (35) Por su parte, Saravia y Vargas (2023) reportaron una densidad relativa de 0.9720 g/mL del aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico”, índice de refracción 1,4818 nD, rotación óptica de 72° (D) y un índice de acidez de 1,4 mg KOH/g, siendo el último parámetro fisicoquímico mayor a nuestro resultado obtenido. (34)

El cuanto a los parámetros fisicoquímicos del aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* “Limón risso” el pH obtenido fue de 4.8, la densidad 0.8454 g/ml, el índice de refracción 1.4711, la rotación óptica 55.8 (D) y el índice de acidez 1.3464. En la investigación realizado por Urrunaga et al. (2022) reportaron un pH de 4.7 ± 0.01 , Densidad (20°C) $0.844 \text{ g/ml} \pm 0.02$ y Índice de refracción (20°C) de 1.472 ± 0.01 , valores muy similares a los reportados en este estudio. (45)

Al comparar el valor del pH obtenido de los aceites esenciales de ambas especies vegetales frente a los estudios previos mencionados, se observa que todos los valores son ligeramente ácidos tanto de *P. aduncum* “Matico” (pH 5) y *Citrus jambhiri Lush* “Limón risso” (pH 4.5), aunque en general, los aceites puros (como los aceites vegetales) no tienen un pH medible, ya que son sustancias no acuosas y el pH se refiere a la concentración de iones de hidrógeno en soluciones acuosas. Sin embargo, el pH de un aceite puede ser considerado ácido en las siguientes circunstancias, por ejemplo, a causa de los esteres ácidos que se forman en presencia de calor ya que pueden liberar protones, contribuyendo a un pH más bajo, otra causa es la oxidación de los aceites, especialmente cuando están expuestos al aire durante periodos prolongados, puede llevar a la formación de compuestos ácidos, lo que resulta un sabor rancio y un pH más ácido. Otros factores que pueden influir son la contaminación con ácidos, ya sea a través de un proceso de degradación o unas reacciones químicas. (112)

Los valores reportados de la densidad de los aceites esenciales *P. aduncum* “Matico” (0.9088 g/ml) y *Citrus jambhiri Lush* “Limón risso” (0.8454 g/ml), fueron menores a la del agua debido a que las moléculas de los aceites vegetales tienen una masa molar más baja en comparación con el agua y esto contribuye a que tengan mayor proporción de espacio vacío en su estructura. Otra causa es que la mayoría de aceites son hidrocarburos, es decir compuestos formados solo por hidrógeno y carbono, el cual poseen una menor densidad que la del agua y también porque las moléculas de agua están unidas por enlaces de hidrógeno lo que permite una disposición más compacta, en cambio los aceites esenciales incluyen en su estructura cadenas largas de carbono e hidrógeno lo que resulta en un empaquetamiento menos denso, es por ello que la densidad de los aceites esenciales rondan entre 0.8 g/ml y 0.95 g/ml. (112)

El Índice de refracción de los aceites esenciales tiene como aplicación ser usado como criterio de pureza, ya que si se desvía significativamente de los valores estándar para un aceite esencial específico puede indicar adulteración o la presencia de impurezas. En nuestra investigación los valores reportados del aceite esencial de *P. aduncum* “Matico” (1.4999 nD) y *Citrus jambhiri Lush* “Limón risso” (1.4711 nD), se encuentran

dentro de los límites establecidos frente a las investigaciones previas, ya que generalmente el índice de refracción del aceite esencial de matico (*Piper aduncum*) se encuentra en el rango de 1.485 a 1.505, mientras que el índice de refracción del aceite esencial de *Citrus jambhiri* (también conocido como limón de la India o limón risso) suele encontrarse en un rango aproximado de 1.470 a 1.485. (113) Por lo tanto, los resultados del índice de refracción de ambos aceites esenciales obtenidos por el método de destilación por arrastre de vapor nos estarían confirmando la existencia de pureza y alta calidad.

La rotación óptica de un aceite esencial es una medida de la capacidad de un compuesto para rotar el plano de polarización de la luz polarizada. Esta propiedad es particularmente importante, ya que puede proporcionar información valiosa sobre la estructura, pureza y calidad de los aceites esenciales. (114) En nuestro estudio se obtuvo una rotación óptica de 30 (D) para el aceite esencial de *Piper aduncum* "Matico" y 55.8 (D) para el aceite esencial de *Citrus jambhiri* Lush "Limón risso". Ambos valores obtenidos se encuentran dentro de los límites establecidos frente a las investigaciones previas, pero con unas ligeras diferencias, ya que el valor específico puede variar dependiendo de factores como el método de extracción, la calidad de la planta y las condiciones de cultivo.

Respecto al índice de acidez de un aceite esencial, se refiere a la cantidad de ácidos libres presentes en el aceite, lo que puede ser un indicativo de la calidad del aceite, su estado de conservación y posibles procesos de degradación. Hay que tener en cuenta que un índice de acidez más bajo generalmente indica un aceite de mayor calidad, mientras que un índice elevado puede señalar la descomposición o deterioro del aceite. Asimismo, los aceites con un alto índice de acidez son más susceptibles a la rancidez y a la degradación, lo que puede afectar su aroma y propiedades terapéuticas; también un aumento en el índice de acidez puede ser un signo de adulteración, ya que puede resultar de la mezcla con otros aceites de menor calidad o de aceites rancios. (86) El índice de acidez del aceite esencial de *Piper aduncum* (matico) puede variar dependiendo de factores como el método de extracción y las condiciones de cultivo, pero típicamente se reporta en un rango de aproximadamente 1 a 4.5 mg de KOH por gramo de aceite, en cambio el índice de acidez del aceite esencial de *Citrus jambhiri* (limón de la India o limón risso) suele estar en el rango de aproximadamente 0.5 a 3.0 mg de KOH por gramo de aceite. (115) Este rango puede depender de factores como la variedad del fruto, las condiciones de cultivo y el método de extracción. En nuestra investigación se obtuvo un valor de 0.2244 mg KOH/g para el aceite esencial de *Piper aduncum* "Matico" y 1.3464 mg KOH/g para el aceite esencial de *Citrus jambhiri*

Lush “Limón risso”, ambos valores dentro de los estándares específicos lo cual no señalan signos de descomposición o deterioro del aceite.

Los resultados de la determinación de las propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales de las plantas en estudio, *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri* *Lush* “Limón risso”, presentaron valores dentro de los límites establecidos en investigaciones previas, esto significa que los aceites esenciales extraídos por el método de destilación por arrastre de vapor presentan buena calidad, por lo cual se puede utilizar con confianza para la elaboración del gel dental.

4.6. Determinación de la composición química del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico) por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

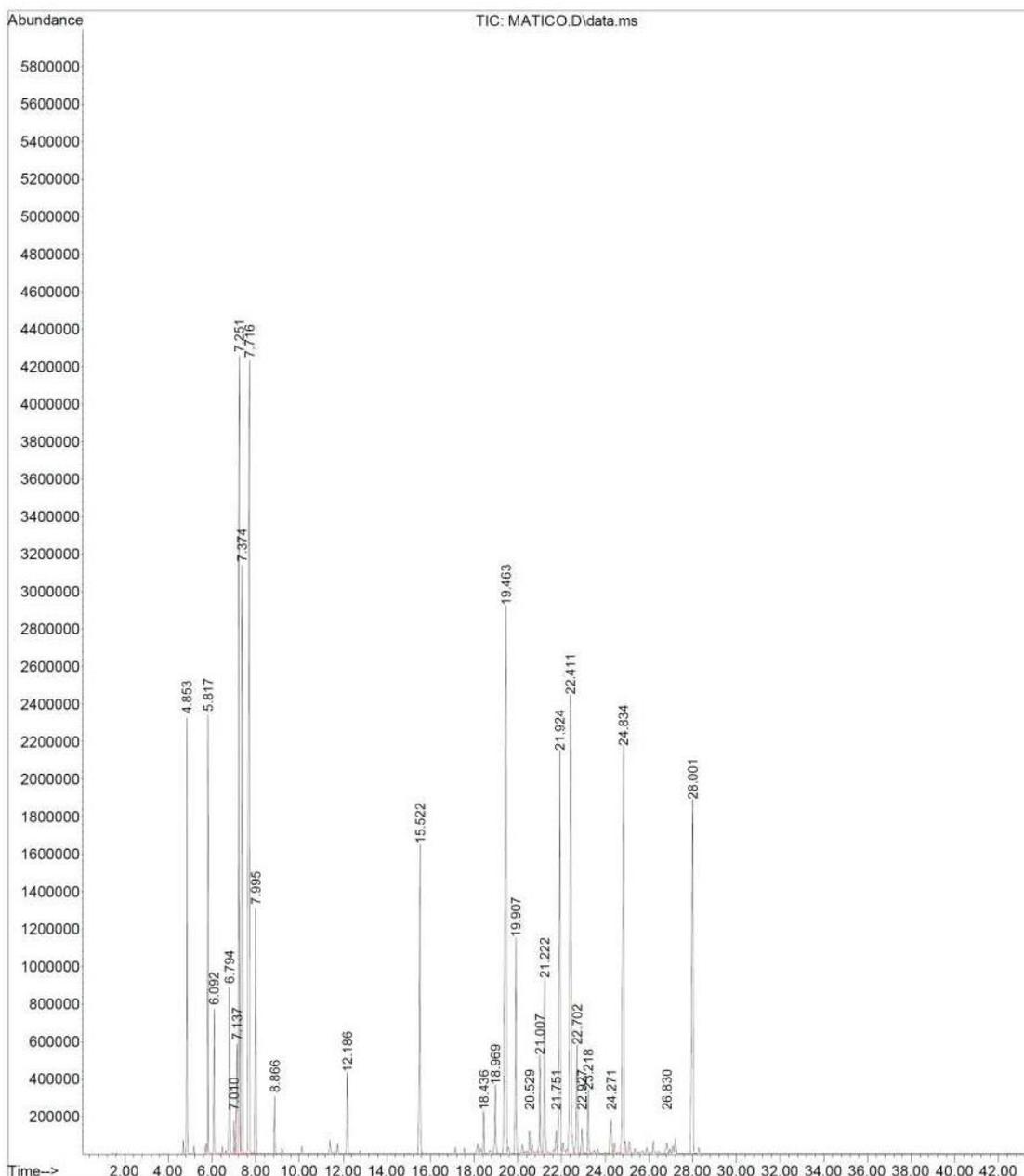
Tabla N° 4.8. Composición química del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico)

Pico	Tiempo (min)	Compuesto	CAS	Peso molecular (g/mol)	Tipo	Porcentaje (%)
1	4.85	(-)- α -Pinoeno	007785-26-4	136.24	MH	3.2
2	5.82	(-)- β -Pinoeno	018172-67-3	136.24	MH	3.8
3	6.09	β -Mirceno	000123-35-3	136.24	MH	1.2
4	6.79	α -Terpinoeno	000099-86-5	136.24	MH	1.5
5	7.01	p-Cimeno	000099-87-6	134.21	MH	0.3
6	7.14	D-Limoneno	005989-27-5	136.24	MH	1.3
7	7.25	Eucaliptol	000470-82-6	154.25	MO	10.8
8	7.37	Trans- β -Ocimeno	003779-61-1	136.23	MH	6.6
9	7.72	β -Ocimeno	013877-91-3	136.23	MH	13.7
10	8.00	γ -Terpinoeno	000099-85-4	136.24	MH	2.2
11	8.87	Terpinoleno	000586-62-9	136.24	MH	0.6
12	12.19	α -Terpineol	000098-55-5	154.25	MO	0.9
13	15.52	Safrol	000094-59-7	162.19	MO	4.4
14	18.44	Copaeno	003856-25-5	204.36	SH	0.5
15	18.97	(-)- β -Elemene	000515-13-9	204.35	SH	0.9
16	19.46	Metileugenol	000093-15-2	178.23	FP	10.8
17	19.91	Cariofileno	000087-44-5	204.36	SH	2.8
18	20.53	Aromandendreno	000489-39-4	204.35	SH	0.3
19	21.01	Humuleno	006753-98-6	204.35	SH	1.3
20	21.22	Miristicina	000607-91-0	192.21	FP	2.4
21	21.75	γ -Muuroleño	030021-74-0	204.35	SH	0.3
22	21.92	Trans-Germacreno	023986-74-5	204.35	SH	5.9
23	22.41	Biciclogermacreno	067650-90-2	204.35	SH	8.0
24	22.70	α -Farneseno	000502-61-4	204.35	SH	1.5
25	22.93	α -Amorfeno	000483-75-0	204.35	SH	0.4
26	23.22	Delta-Cadineno	000483-76-1	204.35	SH	0.8
27	24.27	γ -Elemene	029873-99-2	204.35	SH	0.7
28	24.83	Elemicina biciclo [4.4.0]dec-1-eno, 2-	000487-11-6	208.25	FP	6.7
29	26.83	Isopropil-5-metil-9- metileno	150320-52-8	204.35	SH	0.3
30	28.00	Asarona	002883-98-9	60.08	FP	5.9

Fuente: Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría-UNSAAC

CAS: Número para identificar la molécula; MH: Monoterpeno hidrocarbonado, MO: Monoterpeno oxigenado, SH: Sesquiterpeno hidrocarbonado, FP: Fenilpropanoide.

Figura N°15. Cromatograma con los picos correspondientes a cada uno de los compuestos identificados en el aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico)



ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La tabla N° 4.8 nos detalla la composición química del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico), realizado por el método de Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas. Los resultados obtenidos mediante CG/EM mostraron la presencia de 30 componentes. Los componentes orgánicos volátiles predominantes fueron β -Ocimeno (13.7%), Metileugenol (10.8%), Eucaliptol (10.8%), Biclogermacreno (8.0%), Elemicina biciclo [4.4.0]dec-1-eno, 2- (6.7%), Trans- β -Ocimeno (6.6%), trans-Germacreno (5.9%), Asarona (5.9%), Safrol (4.4%), β -pineno

(3.8%), α -pineno (3.2%), Cariofileno (2.8%), Miristicina (2.4%), γ -terpineno (2.2%), α -Terpineno (1.5%), α -Farneseno (1.5%), Limoneno (1.3%), Humoleno (1.3%), β -Mirceno (1.2%).

Estos compuestos se agrupan en las siguientes familias químicas: monoterpeno hidrocarbonado, monoterpeno oxigenado, sesquiterpeno hidrocarbonado y fenilpropanoide. Siendo los más abundantes los monoterpenos hidrocarbonados en un 34.4%, seguido por los sesquiterpenos hidrocarbonados en un 30.4%, fenilpropanoides en un 19.1% y finalmente los monoterpenos oxigenados en un 16.1%.

Del mismo modo, en la figura N°15, se observan los picos correspondientes a cada uno de los componentes identificados mediante CG/EM, donde el pico más alto representa al componente con mayor porcentaje que es el β -Ocimeno, seguido por metileugenol, eucaliptol, entre otros.

En un estudio anterior, realizado por Ingaroca Tejeda (2018), se identificaron diversos componentes en el aceite esencial de *Piper aduncum* L. (matico), entre ellos, el 1,2,4-trimetoxi-5-(1-propenil)-benceno en un 39,32 %, el metileugenol en un 12,85 %, el germacreno D en un 7,52 %, el biciclogermacreno en un 5,88 %, el 8-Isopropenil-1,5-dimetil-ciclododeca-1,5-dieno en un 2,99 %, el β -cariofileno en un 2,82 %, el δ -cadineno en un 2,81 % y el β -ocimeno en un 2,34 %. Es así que la investigadora identificó que los fenilpropanoides fueron el grupo más abundante con un 53,43 %, con el 1,2,4-trimetoxi-5-(1-propenil)-benceno y el metileugenol como los principales componentes de este grupo químico. Los terpenoides con un 40,66 % constituyeron el segundo grupo más representado. Además, el contenido de hidrocarburos sesquiterpenoides con un 26,61 % fue mayor que el de los sesquiterpenoides oxigenados que tuvo 2,84 %, mientras que las cantidades de hidrocarburos monoterpenoides representados por un 6,55 % y de monoterpenoides oxigenados con un 4,66 % fueron similares. (40)

Según Zanolli Bernuci Katerine et al (2016), en su investigación evaluaron la composición química del aceite esencial de *Piper aduncum* utilizando Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, identificando los siguientes componentes principales: el biciclogermacreno (20.9%), el (E)- β - Ocimeno (13.9%), el (Z) – β -Ocimeno (7.0%), el safrol (6.2%), el espatulenol (5.3%), el γ – cardineno (5.5%), el α -humuleno (4.9%), el (E)-cariofileno (2.6%), el linalool (1.3%), el α – Muurolol (1.2%), entre otros. Dentro de estos componentes los más predominantes fueron los sesquiterpenos hidrocarbonados con un 42.2%, seguido por los monoterpenos hidrocarbonados con un 20.0%, los sesquiterpenos oxigenados constituyen un 18,3% y finalmente los monoterpenos oxigenados con un 7.5%. (29)

La mayoría de los componentes identificados en nuestro estudio coincidieron con los reportados en investigaciones anteriores, aunque también se observaron algunas diferencias. Estas diferencias pueden ser atribuibles a diversos factores, tales como, estacionalidad, diferencias genéticas, grado de temperatura, disponibilidad hídrica, radiación UV, fase de desarrollo, propiedades del suelo, temporada de recolección, altura sobre el nivel del mar, entre otros. El monoterpeno, β -Ocimeno, es el responsable de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico), puesto que este compuesto demostró tener actividad antibacteriana en diferentes investigaciones, siendo así eficaz contra diversas bacterias. Del mismo modo, el metileugenol, el eucaliptol, el biciclogermacreno poseen actividad antimicrobiana demostrada en investigaciones previas.

4.7. Determinación de la composición química del aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso) por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

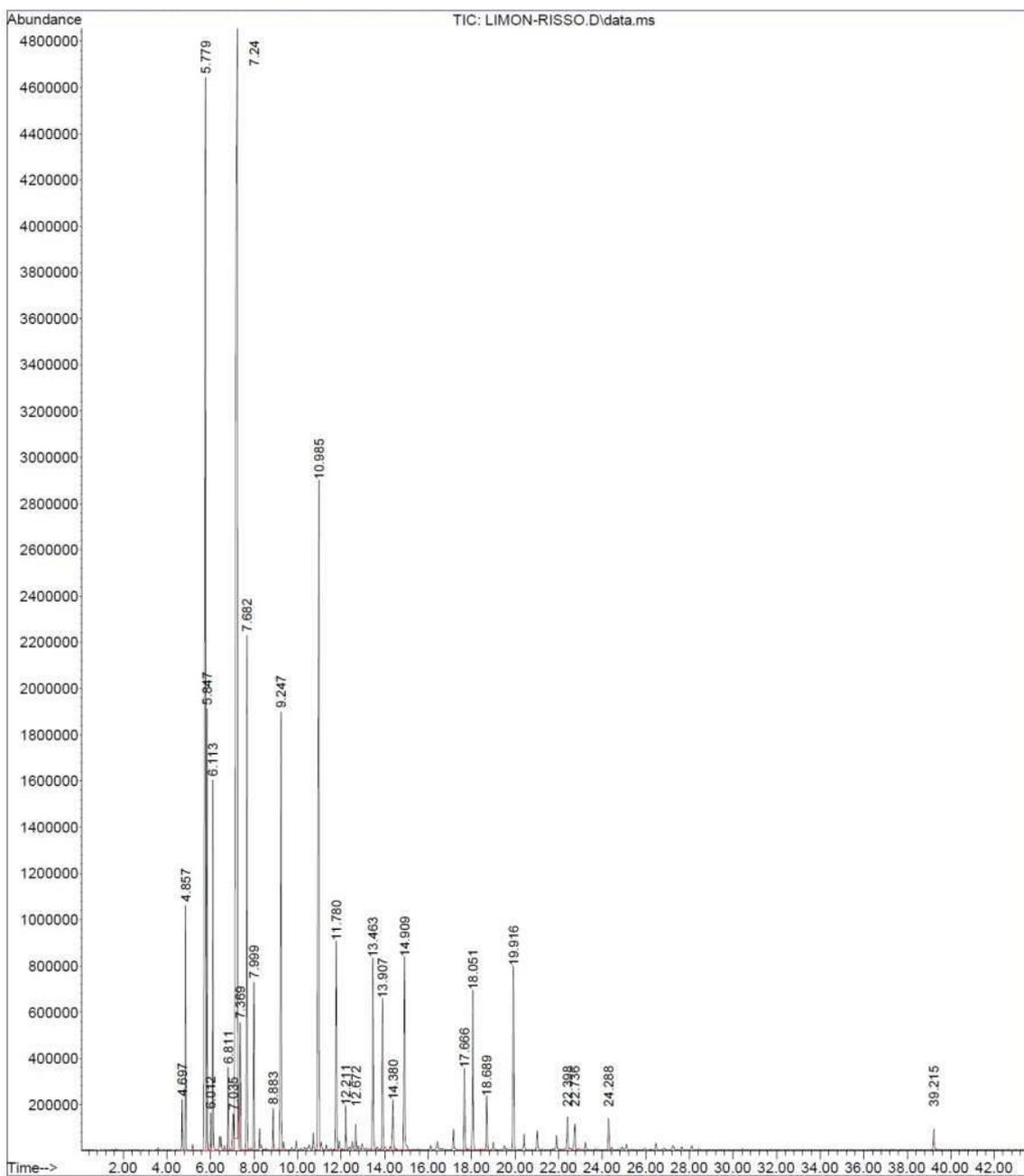
Tabla N° 4.9. Composición química del aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)

Pico	Tiempo (min)	Composición	CAS	Peso molecular (g/mol)	Tipo	Porcentaje (%)
1	4.70	β - tujeno	028634-89-1	136.23	MH	0.4
2	4.86	(+)- α -Pinoeno	007785-70-8	136.24	MH	1.9
3	5.78	Sabineno	003387-41-5	136.23	MH	17.7
4	5.85	(-)- β -Pinoeno	018172-67-3	136.24	MH	3.3
5	6.01	5-Heptano-2-1, metil-	000110-93-0	136.24	MH	0.3
6	6.11	β -Mirceno	000123-35-3	136.24	MH	3.2
7	6.81	α -Terpineno	000099-86-5	136.24	MH	0.8
8	7.04	m-Cimeno	000535-77-3	134.21	MH	0.5
9	7.24	D-Limoneno	005989-27-5	136.24	MH	29.1
10	7.37	Trans- β - Ocimeno	003779-61-1	136.23	MH	1.1
11	7.68	β -Ocimeno	003338-55-4	136.24	MH	5.3
12	8.00	γ -Terpineno	000099-85-4	136.24	MH	1.6
13	8.88	(+)-4-Careno	029050-33-7	136.23	MH	0.5
14	9.25	Linalol	000078-70-6	154.25	MO	5.4
15	10.98	(R) - (+)- Citronelal	002385-77-5	154.25	MO	10.5
16	11.78	Terpinen-4-ol	000562-74-3	154.25	MO	2.5
17	12.21	α -Terpineol	000098-55-5	154.25	MO	0.5
18	12.67	Decanal	000112-31-2	156.2	AO	0.3
19	13.46	(R) - (+)- β - Citronelol	001117-61-9	156.27	MO	2.3
20	13.91	(Z)-Citral	000106-26-3	152.23	MO	1.8
21	14.38	Acetato de linalilo	000115-95-7	196.29	MO	0.7
22	14.91	Trans-Citral	000141-27-5	152.23	MO	2.5
23	17.67	2,6-Octadieno, 2,6-Dimetilo	002792-39-4	138.25	MH	1.0
24	18.05	Acetato de Nerilo (P)	000141-12-8	196.29	MO	2.0
25	18.69	Nerol	000106-25-2	154.25	MO	0.7
26	19.92	Cariofileno	000087-44-5	204.36	SH	2.4
27	22.40	γ -Elemene	003242-08-8	204.35	SH	0.5
28	22.74	β -Bisabolene	000495-61-4	204.35	SH	0.4
29	24.29	(-) γ - Elemene	029873-99-2	204.35	SH	0.4
30	39.22	Fitol	000150-86-7	296.53	DO	0.3

Fuente: Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría-UNSAAC

CAS: Número para identificar la molécula; MH: Monoterpeno hidrocarbonado; MO: Monoterpeno oxigenado; SH: Sesquiterpeno hidrocarbonado; AO: Alifático oxigenado; DO: Diterpeno oxigenado.

Figura N°16. Cromatograma con los picos correspondientes a cada uno de los compuestos identificados en el aceite esencial de *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso)



ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La tabla N° 4.9 nos presenta la composición química del aceite esencial de *Citrus jambhiri* Lush (Limón risso), realizado por el método de Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas. Los resultados obtenidos a través de CG/EM mostraron la presencia de 30 componentes. Los principales compuestos identificados fueron: Limoneno con un 29.1%, Sabineno con un 17.7%, Citronelal con un 10.5%, Linalol con un 5.4%, β -ocimeno con un 5.3%, β -Pinenos con un 3.3%, β -Mirceno con un 3.2%, Terpinen-4-ol con un 2.5%, trans-Citral con un 2.5%, Cariofileno con un 2.4%, Acetato de nerilo (P) con un 2.0%, α -pineno con un 1.9%, (Z) Citral con un 1.8%, y γ -terpineno con un 1.6%. De este modo, la familia química más predominante dentro de estos compuestos fueron los monoterpenos hidrocarbonados en un 66.7%, representados por el limoneno, seguido por los monoterpenos oxigenados en un 28.9% y los sesquiterpenos hidrocarbonados en un 3.7%.

En la figura N°16 se observan los picos correspondientes a cada uno de los componentes identificados mediante CG/EM del aceite esencial de Limón risso, siendo el pico más alto del limoneno, seguido por sabineno, Citronelal, entre otros.

En una investigación previa realizado por Pinto Alcón Omar (2020), se utilizó la técnica de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas para identificar los componentes del aceite esencial de Limón. En dicho análisis se determinó que el limoneno fue el componente predominante, representando un 54.64%, seguido por γ -terpineno en un 13.96%, biciclo heptano 6,6 dimetil 2-metil en un 8.12%, citral en un 6.09%, Neral en un 4.46%, β -bisabolene en un 1.80%, α -terpineol en un 1.25%, Linalool en un 0.69%, pineno en un 0.95%, β -mirceno en un 0.92%. (22)

Asimismo, en un estudio anterior de Tupayachi Palomino Ana Cecilia (2024), se llevó a cabo un análisis de la composición química del aceite esencial de Citrus limón, donde se identificaron que los monoterpenos hidrocarbonados constituyen el 76.07%, los sesquiterpenos el 15.27% y los monoterpenos oxigenados constituyen el 4.79%. Entre estos componentes, los monoterpenos hidrocarbonados fueron los más representativos, destacando el limoneno con un 30.16%, seguido por el γ -terpineno con un 12.41%, el β -pineno con un 12.3%, y el p-cumeno con un 10.65%. En cuanto a los monoterpenos oxigenados, el eucaliptol fue el más destacado, alcanzando un 0.61%, seguido por el linalool con un 0.52%. En la categoría de los sesquiterpenos, se detectaron el α -pineno con un 4.79% y el E-citral con un 3.3%. (42)

En la investigación realizada por Urrunaga, et al. (2022), analizaron la composición química del aceite esencial de *Citrus jambhiri* (Limón rugoso) utilizando también el

método de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Se determinaron 16 compuestos, destacando el limoneno con 37.7%, seguido por el β -Pineno con 25.1%, E- β -Ocimeno con 5.6%, Citronelal con 4.9%, linalool con 4.1% y Mircenol con 3.6%. (45)

En nuestra investigación, al igual que en los demás estudios, confirmamos que el limoneno es el componente principal y el más abundante del aceite esencial analizado. Sin embargo, observamos diferencias en los porcentajes de los demás componentes, lo cual podría atribuirse a factores como la temperatura, la presencia de lluvias, momento de recolección, la altitud, el grado de maduración de la especie vegetal, entre otros.

Además, comprender la composición química del aceite esencial de *Citrus jambhiri* Lush (Limón risso) es crucial para entender su efecto antibacteriano. Esto resalta el interés en utilizar estos aceites como agentes antimicrobianos y agentes conservantes en formulaciones, en los cuales podrían reemplazar los conservantes y antibióticos convencionales. En este contexto, los componentes a los cuales se les atribuye la actividad antimicrobiana son el limoneno, el sabineno, citronelal, linalool, puesto que, según la revisión bibliográfica, se consideran sustancias con gran potencial para tratar infecciones provocadas por bacterias patógenas tanto gram-positivos como gram-negativos.

4.8. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico) por el método de macrodilución, frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Tabla N° 4.10. Resultados de la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico) por el método de macrodilución, frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

N° DE TUBO	CONCENTRACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO – ACEITE ESENCIAL DE <i>Piper aduncum</i> (MATICO)	GRADO DE TURBIDEZ	CLASIFICACIÓN			
			INHIBICIÓN BUENA ACTIVIDAD	MODERADA ACTIVIDAD	POCO ACTIVO	INACTIVO
1	100%	Sin turbidez	Buena actividad			
2	50% CMI	Sin turbidez	Buena actividad			
3	25%	Poca turbidez		Moderada actividad		
4	12.5%	Poca turbidez		Moderada actividad		
5	6.25%	Con turbidez			Poca actividad	
6	3.13%	Con mayor turbidez				Inactivo
7	1.56%	Con mayor turbidez				Inactivo

Fuente: Elaboración propia basada en datos experimentales del estudio.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N° 4.10 se presentan los resultados de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Piper aduncum*, conocido como "Matico", frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Estos resultados son relevantes para evaluar la efectividad del aceite esencial en la inhibición del crecimiento bacteriano de esta cepa específica.

Es así que después de incubar todos los tubos a 37°C por 24 horas, se procedió a visualizar la turbidez en cada uno de ellos, teniendo los siguientes resultados: El tubo N°1 que contiene el 100% del aceite esencial de Matico no presentó turbidez, el tubo N°2 que contiene el 50% del aceite esencial de Matico tampoco presentó turbidez, en cambio, el tubo N°3 que contiene el 25% del aceite presentó poca turbidez, el tubo N°4 que contiene el 12.5% del aceite esencial de matico presentó también poca turbidez, en el tubo N°5 que contiene el 6.25% del aceite esencial de matico se observó la presencia de turbidez, en el tubo N°6 que contiene el 3.13% del aceite esencial de matico se observó una mayor turbidez, al igual que el tubo N°7 que contiene el 1.56% del aceite esencial de matico que también se observó una mayor turbidez. Entonces llegamos a la conclusión de que el tubo que no presenta crecimiento microbiano (Ausencia de turbidez) es el tubo N°2 en el que se incorporó el 50% del aceite esencial de Matico, por tanto, ésta fue la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico), dicho resultado se utilizó para la formulación del gel dental.

El método de dilución en caldo es fundamental, ya que facilita la observación del crecimiento o la inactividad de un microorganismo en un medio líquido que contiene una determinada concentración de antimicrobiano. La verificación se realiza de manera visual, comprobando si hay turbidez en los tubos; la ausencia de turbidez sugiere que el antimicrobiano ha sido efectivo en inhibir el crecimiento del microorganismo. (116)

4.9. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso) por el método de macrodilución, frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Tabla N° 4.11. Resultados de la determinación de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso) por el método de macrodilución frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

N° DE TUBO	CONCENTRACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO – ACEITE ESENCIAL DE <i>Citrus jambhiri</i> Lush (LIMÓN RISSO)	GRADO DE TURBIDEZ	CLASIFICACIÓN			
			INHIBICIÓN BUENA ACTIVIDAD	MODERADA ACTIVIDAD	POCO ACTIVO	INACTIVO
1	100%	Sin turbidez	Buena actividad			
2	50% CMI	Sin turbidez	Buena actividad			
3	25%	Poca turbidez		Moderada actividad		
4	12.5%	Con turbidez			Poca actividad	
5	6.25%	Con mayor turbidez				Inactivo
6	3.13%	Con mayor turbidez				Inactivo
7	1.56%	Con mayor turbidez				Inactivo

Fuente: Elaboración propia basada en datos experimentales del estudio.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N° 4.11 se demuestran los resultados de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush*, conocido como “Limón Risso”, frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Estos resultados son relevantes para evaluar la efectividad del aceite esencial en la inhibición del crecimiento bacteriano de esta cepa específica.

Así, tras incubar todos los tubos a 37°C por 24 horas, se procedió a visualizar la turbidez en cada uno de ellos, obteniendo los siguientes resultados: El tubo N°1 que contiene el 100% del aceite esencial de limón risso no presentó turbidez, el tubo N°2 que contiene el 50% del aceite esencial de limón risso tampoco presentó turbidez, en cambio, el tubo N°3 que contiene el 25% del aceite esencial de limón risso ya presentó poca turbidez, el tubo N°4 que contiene el 12.5% del aceite esencial presentó turbidez, el tubo N°5 que contiene el 6.25% del aceite esencial presentó una mayor turbidez, el tubo N°6 que contiene el 3.13% del aceite esencial de limón risso presentó una mayor turbidez al igual que el tubo N°7 que contiene el 1.56% del aceite esencial que también presentó una mayor turbidez. Entonces llegamos a la conclusión de que el tubo que no presenta crecimiento microbiano (Ausencia de turbidez) es el tubo N°2 en el que se incorporó el 50% del aceite esencial de Limón risso. Por lo tanto, esta concentración se estableció como la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso), dicho resultado se utilizó para formular el gel dental.

De acuerdo con Pérez Esteve Édgar, el método de dilución en caldo es fundamental, ya que facilita la observación del crecimiento o la inactividad de un microorganismo en un medio líquido que contiene una determinada concentración de antimicrobiano. La verificación se realiza de manera visual, comprobando si hay turbidez en los tubos; la ausencia de turbidez sugiere que el antimicrobiano ha sido efectivo en inhibir el crecimiento del microorganismo. (116)

4.10. Preformulación del gel dental de limpieza a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso)

Tabla N° 4.12. Preformulaciones del gel dental de limpieza.

-Composición del gel dental de limpieza (100 gr).

COMPONENTES DE LA PREFORMULACIÓN	PROPÓSITO	PRE-FORMULACIONES				
		G1	G2	G3	G4	G5
		1%	2%	3%	4%	5%
Aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> "Matico" (mL) y Aceite esencial de <i>Citrus jambhiri</i> Lush "Limón Risso" (mL)	Sustancias activas	1	2	3	4	5
Carboximetilcelulosa (CMC) (g)	Base de gel	1.6	1.8	2	2	3
Glicerina (mL)	Agente plastificante	12	12	12	12	12
Tween 80 (g)	Estabilizador	2	2	2	2	2
NaOH 10% (mL)	Regulador de la acidez	-	-	-	0.4	0.4
Sorbitol (g)	Edulcorante	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Stevia (g)	Edulcorante	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2
Agua destilada (mL)	Disolvente	79.4	78.2	77	75.6	73.6
pH		6.79	6.82	6.96	6.99	7

Fuente: Elaboración propia basada en datos experimentales del estudio.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La tabla N°4.12 nos muestra las preformulaciones que realizamos, las cuales fueron basadas en las patentes por Karakoz (89), con el objetivo a acercarse a las características ideales del gel dental de limpieza. En la presente tabla se presentan las 5 preformulaciones donde se modificaron las composiciones para alcanzar las propiedades óptimas. Se hizo uso del hidróxido de sodio al 10% como regulador de la acidez, en las preformulaciones 4 y 5 que necesitaban corregir la acidez, se añadió cuidadosamente hasta alcanzar el nivel de pH deseado.

4.11. Características organolépticas y fisicoquímicas de las preformulaciones.

Tabla N° 4.13. Características organolépticas y fisicoquímicas de las preformulaciones.

Características organolépticas y fisicoquímicas	G1	G2	G3	G4	G5
Color	Azul	azul	azul	Azul lechoso	Azul lechoso
Olor	Cítrico suave	Cítrico suave	Cítrico suave	Cítrico fuerte	Cítrico fuerte
Sabor	Dulce fresco	Dulce fresco	Dulce fresco	Amargo	Amargo picante
Consistencia	media	media	media	fluida	fluida
pH	6.79	6.82	6.96	6.99	7
Homogeneidad	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo
Transparencia	Translúcido	Translúcido	Translúcido	Translúcido	Turbio/opaco

Fuente: Elaboración propia basada en datos experimentales del estudio.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la preformulación 1 se observó que el gel dental presentó un color azul, olor cítrico suave, un sabor dulce-fresco, consistencia media, pH óptimo, además de ser homogéneo y translúcido.

En la preformulación 2 se observó el gel dental de color azul, olor cítrico suave, sabor dulce fresco, consistencia media, pH óptimo y mostró ser homogéneo y translúcido.

En la preformulación 3 se llegó a observar que el gel dental presentó un color azul, un olor cítrico suave, sabor dulce fresco, de consistencia media, pH óptimo, homogéneo y translúcido.

En la preformulación 4 se observó que el gel dental presentó un color azul lechoso, olor cítrico fuerte, sabor amargo, consistencia fluida; esto debido al incremento en la concentración de los aceites esenciales, fue necesario agregar NaOH para ajustar su pH, el gel dental se observó homogéneo y translúcido.

En la preformulación 5 se observó el gel dental de color azul lechoso, un olor cítrico fuerte, sabor amargo picante, consistencia resultó ser fluida; lo cual se atribuyó al aumento en la concentración de los aceites esenciales, fue necesario agregar NaOH

para corregir su pH, el gel dental se observó homogéneo, pero en cuanto a la transparencia, se observó turbio/opaco.

Las alteraciones en las características organolépticas y fisicoquímicas del gel dental pueden estar relacionadas con el incremento en la concentración de los aceites esenciales, ya que una mayor cantidad de estos compuestos podría modificar la estructura coloidal del gel, afectando su homogeneidad y viscosidad. Esto, a su vez, podría limitar la liberación eficiente de los principios activos, disminuyendo su capacidad de difusión en el medio de cultivo y, por ende, su actividad antibacteriana.

4.12. Formulación y elaboración del gel dental de limpieza a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)

Tabla N° 4.14. Formulación y elaboración del gel dental a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* "Matico" y *Citrus jambhiri Lush* "Limón Risso"

-Composición del gel dental de limpieza (100 gr)

COMPONENTES DE LA FORMULACIÓN	PROPÓSITO	FORMULACIONES		
		G1	G2	G3
		1%	2%	3%
Aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> "Matico" (mL) y Aceite esencial de <i>Citrus jambhiri Lush</i> "Limón Risso" (mL)	Sustancias activas	1	2	3
Carboximetilcelulosa (CMC) (g)	Base de gel	2	2	2.2
Glicerina (mL)	Agente plastificante	12	12	12
Tween 80 (g)	Estabilizador	2	2	2
NaOH 10% (mL)	Regulador de la acidez	-	-	-
Sorbitol (g)	Edulcorante	0.8	0.8	0.8
Stevia (g)	Edulcorante	3.2	3.2	3.2
Agua destilada (mL)	Disolvente	79	78	76.8
pH		6.79	6.82	6.96

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La tabla N° 4.14 nos muestra todos los insumos que utilizamos para la elaboración del gel dental de limpieza, como sustancia activa se tuvo a los aceites esenciales de *Piper*

aduncum (matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón risso), donde se realizó la mezcla de los dos aceites esenciales en una proporción volumétrica de 1:1; es decir, ambos componentes fueron añadidos en cantidades iguales. Se utilizó la Carboximetilcelulosa (CMC) como base de gel, este aditivo actuó como sustancia estabilizadora y espesante, gracias a este componente se logró obtener un gel dental con una consistencia y una adhesividad adecuada. Se usó también la glicerina como agente plastificante, es decir, este componente ayudó a que nuestro gel dental mantenga su elasticidad y flexibilidad. Se utilizó el Tween 80 como estabilizador, ya que dicho componente permitió una dispersión uniforme entre el aceite esencial y el agua, previniendo así la separación de fases y mejorando la estabilidad del producto elaborado. Como edulcorantes se utilizaron el sorbitol y la stevia, el sorbitol conjuntamente con la glicerina ayudó a lograr una textura homogénea en el gel dental, por su parte la stevia es un edulcorante natural el cual aportó un sabor dulce al gel dental para así lograr una limpieza dental más agradable. Es así que el sorbitol y la stevia son edulcorantes no cariogénicos, es decir; no favorecen la formación de caries. Se formuló y elaboró el gel dental de limpieza a concentraciones de 1%, 2% y 3%.

4.13. Control de calidad organoléptico del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso).

Tabla N° 4.15. Resultados del control de calidad organoléptico del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) Y *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso).

PARÁMETROS	FORMULACIONES		
	GEL DENTAL CON ACEITES ESENCIALES AL 1%	GEL DENTAL CON ACEITES ESENCIALES AL 2%	GEL DENTAL CON ACEITES ESENCIALES AL 3%
COLOR	Azul	Azul	Azul
OLOR	Cítrico suave - característico	Cítrico suave - característico	Cítrico suave - característico
SABOR	Dulce fresco	Dulce fresco	Dulce fresco
CONSISTENCIA	Media	Media	Media

Fuente: Elaboración propia basada en datos experimentales del estudio.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Según la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA), las características organolépticas son determinantes para establecer los parámetros de aceptación de un

producto por parte del consumidor. Estas características incluyen aspectos como el color, olor, sabor y consistencia que son percibidas a través de los sentidos. Es así que la calidad organoléptica influye en la decisión de adquisición del producto, ya que los consumidores tienden a preferir aquellos productos que les resulten agradables sensorialmente. Por lo tanto, es crucial considerar estas características en el desarrollo y evaluación del gel dental. (117)

La presente tabla N° 4.15 muestra las características organolépticas de los geles dentales elaborados con la combinación de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso), se elaboraron 3 formulaciones a concentraciones de 1%, 2% y 3%.

La formulación al 1% presentó un color azul, olor cítrico suave, sabor dulce con sensación de frescura y una consistencia media; la formulación al 2% presentó también un color azul característico, un olor cítrico suave, un sabor dulce fresco y una consistencia media y la formulación al 3% presentó un color azul, un olor cítrico característico, un sabor dulce con sensación de frescura y una consistencia media, al igual que las otras dos formulaciones.

Por lo tanto, nuestras tres formulaciones presentaron características organolépticas adecuadas para un gel dental.

En comparación con la investigación realizada por Montesdeoca Vique (2024) que diseñó y elaboró un dentífrico, se determinó el control de calidad organoléptico, donde se establecieron características como sabor dulce y fresco, color verde perlado y fragancia a menta, que resultan atractivas para el consumidor. En este contexto, tanto el sabor como el olor contribuyen a generar una sensación de limpieza y frescura en la boca tras el cepillado. Además, es importante destacar que el color y el olor deben ser coherentes con las expectativas de los consumidores sobre el dentífrico, dado su impacto psicológico en la percepción del producto. (25)

4.14. Control de calidad fisicoquímico del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso).

Tabla N° 4.16. Resultados del control de calidad fisicoquímico del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) Y *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso)

PARÁMETROS	FORMULACIONES		
	GEL DENTAL CON ACEITES ESENCIALES AL 1%	GEL DENTAL CON ACEITES ESENCIALES AL 2%	GEL DENTAL CON ACEITES ESENCIALES AL 3%
HOMOGENEIDAD	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo
TRANSPARENCIA	Translúcido	Translúcido	Translúcido
EXTENSIBILIDAD	219.04 mm ² Conforme	221.67 mm ² Conforme	226.98 mm ² Conforme
pH	6.79	6.82	6.96
VISCOSIDAD	Semisólida - Aceptable	Semisólida - Aceptable	Semisólida - Aceptable
ADHERENCIA	10 minutos	10 minutos	10 minutos
ESTABILIDAD ACELERADA	Estable	Estable	Estable
ESTABILIDAD	Estable	Estable	Estable
CALENTAMIENTO- REFRIGERACIÓN	Estable	Estable	Estable

Fuente: Elaboración propia basada en datos experimentales del estudio.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N° 4.16 se muestran los resultados del control de calidad fisicoquímico del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso). Se encontraron características fisicoquímicas óptimas como: formulaciones homogéneas, translúcidas, extensibles, semisólidas, pH dentro del rango normal y estables frente a las evaluaciones realizadas de estabilidad, pruebas de estabilidad acelerada y calentamiento-refrigeración.

En cuanto a la homogeneidad; tanto la formulación al 1%, 2% y 3% muestran un aspecto homogéneo, lo cual es una característica deseable en los geles dentales desde el punto de vista de calidad. En la investigación llevada a cabo por Montesdeoca Vique Luis

Eduardo (2024), se concluyó que la formulación del dentífrico exhibía un aspecto homogéneo, resultado de una combinación idónea y una igual distribución de sus componentes. Esta característica es crucial para garantizar una aplicación efectiva en los dientes y encías. Asimismo, se enfatizó que las pastas dentales deben tener una consistencia pastosa y ligeramente fluida, como ocurre en esa formulación; de lo contrario, una consistencia desigual dificultaría su aplicación. (25)

Respecto al potencial de hidrogeniones, la formulación al 1% presentó un pH de 6.79; la formulación al 2% mostró un pH de 6.82 y la formulación al 3% mostró un pH de 6.96. Dichos valores encontrados oscilan dentro del rango establecido y requerido para un gel dental. Según Guzmán Suarez María Regina (2019) El pH es una medida que indica la concentración de iones hidrógeno en una solución y se expresa en una escala de 0 a 14 (ácido, neutro o básico). En la cavidad bucal, el pH de la saliva varía entre 6.7 y 7.5, lo que lo considera neutro. La saliva tiene una función amortiguadora que actúa en presencia de ácidos, ayudando a equilibrar el pH y previniendo la formación de un ambiente ácido que podría dañar la salud dental. Un pH menos ácido favorece el crecimiento bacteriano, lo que puede impactar negativamente el esmalte dental al provocar su desmineralización y eventual disolución. Este proceso da lugar a la formación de cavidades que, si no se tratan, pueden avanzar hacia la dentina, convirtiendo la lesión en irreversible. Además, un pH alcalino, también contribuye a la dispersión de las bacterias en la superficie dental. (26)

Entonces es crucial mantener un pH equilibrado para asegurar una buena salud bucodental, ya que un desequilibrio puede aumentar el riesgo de caries dentales y erosión del esmalte. Para evitar dichos problemas, es recomendable adoptar hábitos saludables como mantener una buena higiene bucal, llevar una dieta equilibrada y beber suficiente agua para ayudar a estabilizar el pH salival.

En cuanto a la estabilidad acelerada, se realizó llevando en un tubo de ensayo una muestra de gel dental a una centrífuga a 3800 rpm por 30 minutos, pasado ese tiempo se procedió a observar y no hubo separación de fases, no hubo cambios visibles en su olor ni color, por lo que concluimos que nuestras formulaciones son estables.

En la investigación de Iturriaga Díaz Gustavo (2018), se formuló un gel autoadhesivo y se concluyó que, tras los períodos de centrifugación a los que se sometieron las formulaciones, no se observó precipitación de los componentes. Esto sugiere que el sistema de excipientes empleado es eficaz para estabilizar los principios activos, facilitando la solubilización de sus grupos funcionales dentro del sistema de polímeros del gel. Este hallazgo resalta la importancia de elegir adecuadamente los excipientes en

la formulación de geles, ya que su interacción puede influir en la estabilidad y eficacia del producto final. (27)

En relación con la prueba de estabilidad, se llevó a cabo un estudio a largo plazo en el que las formulaciones se almacenaron durante un mes. Durante este periodo no se observaron cambios en sus propiedades organolépticas ni fisicoquímicas. Estos resultados sugieren que nuestras formulaciones mantienen su integridad y calidad a lo largo del tiempo, lo que es fundamental para garantizar su eficacia y seguridad en su uso.

En la prueba de calentamiento-refrigeración, se llevó el gel dental a una temperatura de 40°C y a 4°C durante 7 días, posterior a ello se evaluaron sus características en su aspecto físico, pH, viscosidad, los cuales no sufrieron ningún cambio.

En su investigación, López Gamboa Yoel (2023) llevó a cabo pruebas de estabilidad de un gel dentífrico utilizando condiciones de estufa a 40°C y refrigeración a 4°C. Tras someter las formulaciones a ambas pruebas durante un período de 7 días, se concluyó que no hubo variaciones en las características organolépticas ni separación de fases. Estos resultados indican que el gel dentífrico presenta estabilidad física bajo las condiciones evaluadas, lo que sugiere que la formulación es adecuada para su uso y conservación. (28)

La presente tabla nos muestra también resultados de viscosidad, dicha medición se realizó utilizando el viscosímetro Anton Paar, para lo cual se colocó 100ml de gel dental en un vaso de precipitado de 250mL. La evaluación se realizó a una velocidad de 12.0 rpm teniendo como resultado 483.4 P.

El valor de la viscosidad dinámica que tenemos, 483.4 poise (P), se traduce en 48,340 centipoise (cP), lo que nos indica que nuestra muestra es viscosa en comparación con otros líquidos comunes como el agua o el aceite. Es así que, cuanto mayor es la viscosidad, más espeso o menos fluido es el líquido, este valor nos sugiere que el fluido tiene una mayor resistencia a la deformación y al movimiento.

En el estudio realizado por el investigador Montesdeoca Vique Luis Eduardo (2024) dentro del control fisicoquímico de su dentífrico, se determinó una viscosidad de 21,160 cP a 20 rpm, la diferencia con nuestro resultado puede atribuirse a las distintas velocidades del viscosímetro utilizado. (25)

La tabla N° 4.16 también muestra los resultados sobre la extensibilidad del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri* Lush (Limón risso), donde después de aplicar la fórmula descrita se determinó que la

formulación al 1% tiene una extensibilidad de 219.04 mm², la formulación al 2% tiene una extensibilidad de 221.67 mm² y la formulación al 3% una extensibilidad de 226.98 mm². Ambas formulaciones presentan una extensibilidad conforme, lo que indica que comparten características similares en cuanto a su capacidad de deformarse bajo presión. Esto es importante en el contexto de su aplicación, ya que una extensibilidad adecuada es fundamental para garantizar una buena experiencia del usuario y la eficacia del producto.

La determinación del área de extensibilidad de un gel es necesario, ya que indica una medida del umbral de alteración del sistema y está estrechamente relacionado con el aspecto de las formulaciones semisólidas. Un gel debe tener un equilibrio en su extensibilidad: no puede ser demasiado viscoso (poco extensible) ni excesivamente fluido (demasiado extensible), ya que esto podría resultar incómodo y desagradable durante su aplicación para el paciente. Por lo tanto, es esencial que el gel mantenga un término medio y que su estabilidad se conserve a lo largo del tiempo. (28)

En el estudio realizado por López Gamboa Yoel (2024), se determinó la extensibilidad de un gel, obteniendo un resultado de 163.07cm, esta diferencia en comparación con nuestros resultados puede atribuirse al uso de un peso de 405.05g por parte del investigador, en cambio nosotras utilizamos pesos de 1g, 2g, 5g, 10g y 20g. La variación en los pesos utilizados es significativa y ello podría explicar las diferencias observadas en los resultados de la prueba de extensibilidad. (28)

4.15. Control de calidad microbiológico del gel dental elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) Y *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)

Tabla N° 4.17. Resultados del control microbiológico del gel dental elaborado a base del aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Risso”

DETERMINACIONES	MÉTODO DE ENSAYO DE REFERENCIA NTE INEN 2867	RESULTADOS	LÍMITES DE ACEPTABILIDAD
Microorganismos mesófilos aerobios totales	NTE INEN-ISO 21149	0 x 10 ² UFC/g o mL	Límite máximo 5 x 10 ² UFC/g o mL
<i>Escherichia coli</i>	NTE INEN-ISO 21150	Ausencia	Ausencia en 1 g o mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	NTE INEN-ISO 22718	Ausencia	Ausencia en 1 g o mL
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	NTE INEN-ISO 22717	Ausencia	Ausencia en 1 g o mL
Mohos y levaduras	NTE INEN 1529-10	Ausencia	Ausencia en 1 g o mL

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N° 4.17, se encuentra los resultados de la ausencia total de microorganismos indicativos de contaminación los cuales son *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, Mohos y levaduras, así como la ausencia de microorganismos aerobios mesófilos totales quienes son un parámetro general de higiene, en la formulación final del gel de limpieza dental elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón risso” luego de un periodo de incubación de 24h, 48h y 72h para las bacterias a 37°C ± 1°C y 5 días para el caso de mohos y levaduras a 25°C ± 1°C según cada normativa correspondiente.

Al comparar los valores obtenidos con los límites permisibles establecidos por la Farmacopea de los Estados Unidos <61>, <62>; quien instituye los criterios microbiológicos de la calidad sanitaria y la inocuidad para los productos farmacéuticos no estériles que entran en contacto con las membranas mucosas como los dentífricos,

encontramos que el gel dental de limpieza elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri* Lush. “Limón risso” se encuentra dentro de las especificaciones según la normativa, así mismo se observó que el gel de limpieza dental no albergó ni promovió el crecimiento de microorganismos patógenos, por lo tanto, se determina que el gel de limpieza dental formulado cumple con los parámetros microbiológicos establecidos y posee las normas de calidad e inocuidad. (103)

4.16. Evaluación *in-vitro* del efecto antibacteriano del gel dental de limpieza elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” Y *Citrus jambhiri* Lush. “Limón Risso” a diferentes concentraciones frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Tabla N° 4.18. Lectura de los halos de inhibición obtenidos del gel dental de limpieza elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri* Lush “Limón Risso” a diferentes concentraciones frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

HALOS DE INHIBICIÓN DEL GEL DENTAL DE LIMPIEZA ELABORADO CON LOS ACEITES ESENCIALES DE <i>Piper aduncum</i> “Matico” y <i>Citrus jambhiri</i> Lush. “Limón risso” FRENTE A STREPTOCOCCUS mutans ATCC 25175					
GEL DENTAL	Concentración de los aceites esenciales en la formulación	DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION (mm)			
		I	II	III	PROMEDIO
Gel dental base		6.2 (R)	7.3 (R)	6.8 (R)	6.8 (R)
Gel dental -1	1%	16.7 (MS)	16.0 (MS)	16.2 (MS)	16.3 (MS)
Gel dental -2	2%	14.1 (S)	14.2 (S)	14.2 (S)	14.2 (S)
Gel dental -3	3%	13.7 (S)	13.5 (S)	13.0 (S)	13.4 (S)
Gel dental Colgate		21.9 (AS)	20.2 (AS)	22.4 (AS)	21.5 (AS)
Clindamicina		27.9 (AS)	25.1 (AS)	26.4 (AS)	26.5 (AS)
Ciprofloxacino		36.1 (AS)	35.8 (AS)	36.0 (AS)	35.9 (AS)

Fuente: Elaboración propia

La clasificación de valores en la tabla N° 4.18 se realizó de acuerdo a la escala de Duraffourd, donde ≤ 8 es Resistente, 8-14 es Sensible (S), 15-20 es Muy sensible (MS) y >20 es Altamente Sensible (AS).

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N°4.18, podemos observar los resultados de los diámetros de los halos de inhibición de los tres geles dentales de limpieza elaborados a concentraciones de 1%, 2% y 3% de los aceites esenciales de *Piper aduncum* "Matico" y *Citrus jambhiri* Lush. "Limón risso".

Respecto a los resultados, el gel dental de limpieza al 1% tiene un halo de inhibición de 16.3mm, al 2% presentó un diámetro de 14.2mm y al 3% de 13.4mm, en el cual el primero mostró una mayor actividad a una menor concentración de los aceites esenciales y es el más cercano al gel patrón (Colgate) que es de 21.5mm, los antibióticos clindamicina y ciprofloxacino presentaron diámetros de 26.5mm y 35.9mm, respecto al gel dental base no posee actividad antibacteriana como tal (6.8mm) tomándolo como control negativo.

Riquelme (2023), en su estudio mostró halos de inhibición de 16.65 mm, 15.95mm y 13mm a las concentraciones de 75%, 50% y 100% del aceite esencial de matico, donde indica que a mayor concentración de aceite esencial sus resultados muestran menor efecto antibacteriano. (46)

Es así que podemos afirmar que los geles dentales de limpieza elaborados poseen actividad antibacteriana en las tres concentraciones, sin embargo, el gel dental al 1% es muy sensible, por lo cual es eficaz para inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans* en la cavidad bucal. Este comportamiento se debe a que, en concentraciones bajas como el 1%, los aceites esenciales pueden difundirse mejor en el medio de cultivo, lo que favorece una distribución más uniforme de sus compuestos activos. A medida que se aumenta la concentración (2% y 3%), los aceites esenciales, por su naturaleza lipofílica y la mayor viscosidad, dificultan la difusión en el agar, lo que limita su efecto antibacteriano.

4.16.1. Análisis estadístico de la evaluación del efecto antibacteriano *in-vitro* generado por el gel dental de limpieza elaborado a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” Y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso”

Tabla N° 4.19. Estadísticas descriptivas de los diámetros de los halos de inhibición (mm) del gel dental de limpieza elaborado con los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” Y *Citrus jambhiri Lush*. “Limón Riso” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

	N	Media	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
Gel dental base	3	6,770	,5456	5,415	8,125	6,2	7,3
GD - 1%	3	16,300	,3606	15,404	17,196	16,0	16,7
GD - 2%	3	14,167	,0577	14,023	14,310	14,1	14,2
GD - 3%	3	13,400	,3606	12,504	14,296	13,0	13,7
Gel dental Colgate	3	21,500	1,1533	18,635	24,365	20,2	22,4
Clindamicina	3	26,467	1,4012	22,986	29,947	25,1	27,9
Ciprofloxacino	3	35,967	,1528	35,587	36,346	35,8	36,1
a. modelo=Aceites esenciales							

Fuente: Valores brindados por el programa estadístico SPSS v.25. (GD= Gel dental)

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la Tabla N°4.19, se observan los diámetros promedio de los halos de inhibición (mm) de los geles dentales de limpieza formulados con los aceites esenciales de *Piper Aduncum* “Matico” Y *Citrus jambhiri Lush*. “Limón Riso” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Respecto a los resultados los antibióticos ciprofloxacino y clindamicina con diámetro promedio de 35.967mm y 26.467mm fueron los mayores, seguido del gel dental de Colgate con un promedio de diámetro de 21.500mm, luego el gel dental al 1% con un diámetro promedio de 16.300mm y el menor diámetro promedio se dio con el gel dental al 3% (13,400mm).

Tabla N° 4.20. Análisis de varianza (ANOVA) de los diámetros de los halos de inhibición (mm) del gel dental de limpieza elaborados con los aceites esenciales de *Piper Aduncum* “Matico” Y *Citrus Jambhiri Lush* “Limón Risso” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1683,302	6	280,550	506,448	,000
Dentro de grupos	7,755	14	,554		
Total	1691,058	20			

Fuente: Valores brindados por el programa estadístico SPSS v.25.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Al 95% de confiabilidad, considerando el ANOVA donde $\text{sig}=0.000 < 0.05$, se afirma que los diámetros de los halos de inhibición (mm) de los geles dentales elaborados con los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” Y *Citrus jambhiri Lush*. “Limón Risso” presenta diferencias estadísticamente significativas frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Dado que existen diferencias en los diámetros de los halos de inhibición (mm) del gel dental, se utilizó la prueba POST HOC de TUKEY para determinar los grupos de similitud.

Tabla N° 4.21. Comparación de los diámetros de los halos de inhibición (mm) del gel dental de limpieza elaborado con los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri* Lush “Limón Risso” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

HSD Tukey ^a							
Gel de limpieza dental	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Gel dental base	3	6,770					
Gel dental al 3%	3		13,400				
Gel dental al 2%	3		14,167				
Gel dental al 1%	3			16,300			
Gel dental Colgate	3				21,500		
Clindamicina	3					26,467	
Ciprofloxacino	3						35,967
Sig.		1,000	,858	1,000	1,000	1,000	1,000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.							

Fuente: Valores brindados por el programa estadístico SPSS v.25.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N°4.21, según la prueba TUKEY se observa que el gel dental base tiene la menor actividad antibacteriana, los geles dentales con concentraciones al 3% y 2% tienen una actividad similar puesto que la medida de los diámetros de los halos de inhibición (mm) de ambos geles dentales presentan similitud, el gel dental al 1% mostró una actividad antibacteriana intermedia, superior a los geles de mayor concentración (2% y 3%) pero menor que el gel dental Colgate y antibióticos, además su inclusión en un subconjunto distinto en la prueba de Tukey indica que esta diferencia es estadísticamente significativa. Los antibióticos clindamicina y ciprofloxacino son significativamente más efectivos que todos los geles dentales, con ciprofloxacino siendo el más potente.

4.17. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del gel dental de limpieza elaborado a base del aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” Y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso”.

Tabla N° 4.22. Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del gel dental de limpieza elaborado a base del aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón Riso” frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

N° DE TUBO	CONCENTRACIÓN DEL GEL DENTAL	GRADO DE TURBIDEZ	CLASIFICACIÓN			
			INHIBICIÓN BUENA ACTIVIDAD	MODERADA ACTIVIDAD	POCA ACTIVIDAD	INACTIVO
1	100%	Sin turbidez	Buena actividad			
2	50%	Sin turbidez	Buena actividad			
3	25%	Sin turbidez	Buena actividad			
4	12.5%	Sin turbidez	Buena actividad			
5	6.25%	Sin turbidez	Buena actividad			
6	3.13%	Sin turbidez	Buena actividad			
7	1.56%	Con turbidez			Poca actividad	
8	Control negativo	Con turbidez				Inactivo

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N° 4.22, se observa el resultado de la Concentración Mínima Inhibitoria del gel dental de limpieza formulado a una concentración del 1% de la combinación de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush* “Limón risso” en una proporción de 1:1 frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, donde se observa que luego de la incubación de los tubos durante 24 horas a 37°C, se obtuvo la turbidez en el tubo 7, el cual está relacionado con el crecimiento bacteriano, mientras que desde el tubo 1 al 6 se observó una translucidez lo que indica que no hay crecimiento bacteriano apreciable, por lo tanto, la Concentración mínima inhibitoria (CMI) se ubica en el tubo 6 a una concentración de 3.13% del gel dental de limpieza formulado al 5% a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* “Matico” y *Citrus jambhiri Lush*. “Limón risso”, es decir que el 3,13% de 2ml del gel dental es la menor concentración que impide el crecimiento visible de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

4.17.1. Determinación del efecto sinérgico en la actividad antibacteriana entre los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón risso) mediante el Índice de Fracción Inhibitoria Combinada (FICI)

Fórmula:

$$FICI = FIC A + FIC B$$

Donde:

$$FIC A = \frac{CMI \text{ de } A \text{ en combinación}}{CMI \text{ de } A \text{ individual}}$$

$$FIC B = \frac{CMI \text{ de } B \text{ en combinación}}{CMI \text{ de } B \text{ individual}}$$

Datos utilizados:

Sustancia	CMI individual (%)	CMI en combinación (%)
Aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> “Matico”	50 %	1.565 %
Aceite esencial de <i>Citrus jambhiri Lush</i> . “Limón risso”	50 %	1.565 %
Gel dental (combinación de ambos aceites esenciales)	-	3.13 % (gel completo)

Cálculo del FICI:

$$FIC A (Piper aduncum \text{ "Matico"}) = \frac{1.565}{50} = 0.0313$$

$$FIC B (Citrus jambhiri Lush \text{ "Limón risso"}) = \frac{1.565}{50} = 0.0313$$

$$FICI = 0.0313 + 0.0313 = 0.0626$$

Interpretación:

Según los criterios establecidos para el FICI:

- $FICI \leq 0.5 \rightarrow$ Sinergia
- $0.5 < FICI \leq 1 \rightarrow$ Aditivo
- $1 < FICI \leq 4 \rightarrow$ Indiferente
- $FICI > 4 \rightarrow$ Antagonismo

En este estudio, el FICI fue 0.0626, lo que indica un efecto sinérgico entre los aceites esenciales de *Piper aduncum* "Matico" y *Citrus jambhiri Lush* "Limón Risso"

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente estudio se evaluó la interacción entre los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón risso) mediante el cálculo del índice de fraccionamiento inhibitorio combinado (FICI). El valor obtenido fue de 0.0626, lo que, según criterios establecidos ($FICI \leq 0.5$), indica un efecto sinérgico entre ambos compuestos naturales.

Este hallazgo sugiere que la combinación de estos aceites esenciales actúa de forma cooperativa para potenciar su actividad antibacteriana. En términos prácticos, esto puede traducirse en una mayor eficacia en concentraciones menores.

La sinergia observada podría atribuirse a la interacción entre los principales componentes químicos presentes en cada aceite esencial. En el caso de *Piper aduncum*, se ha reportado una alta concentración de compuestos como el Methyl eugenol conocido por su actividad antimicrobiana. Por otro lado, el aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* es rico en Limoneno y otros monoterpenos. Además, la presencia de β -pineno en ambos aceites esenciales potencia la actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*, al actuar sobre la membrana celular bacteriana y generar efectos sinérgicos con otros terpenos del aceite como el limoneno. Este compuesto ha sido ampliamente reportado por su capacidad de alterar la estructura y función de las membranas bacterianas, facilitando la inhibición del crecimiento o la muerte celular. (31)

Es así que la combinación de estos compuestos químicos puede generar una disrupción sinérgica en las membranas celulares microbianas o interferir en múltiples rutas metabólicas bacterianas simultáneamente, lo que explica el efecto observado.

Estos resultados concuerdan con estudios previos. Por ejemplo, Magalhães et al (2016) demostraron que extractos de *Piper aduncum* “Matico” presentan actividad antimicrobiana significativa contra *S. mutans*, con una CMI de 0.08mg/ml. (2), además de inhibir la adherencia dependiente de sacarosa y reducir la producción de ácido por esta bacteria. Asimismo, García y Llanos (2023) reportaron que el extracto metanólico de hojas de *Piper aduncum* muestra un efecto inhibitorio sobre *S. mutans* ATCC 25175. (20)

En cuanto a *Citrus jambhiri* Lush “Limón risso”, aunque la información específica sobre su actividad antimicrobiana frente a *S. mutans* es limitada, estudios relacionados han mostrado que extractos de hojas de cítricos, como el kaffir lime (*Citrus hystrix*), inhiben la formación de biofilm por *S. mutans* y su crecimiento bacteriano según Chaisomboon et al., 2016. (33)

Desde una perspectiva práctica, estos hallazgos son relevantes, ya que permiten reducir la concentración de cada aceite esencial en la formulación, lo cual puede disminuir el costo, el riesgo de irritación y mejorar la aceptabilidad sensorial del producto final, sin comprometer su eficacia. Además, esta formulación natural, basada en especies vegetales utilizadas en la medicina tradicional peruana, representa una alternativa prometedora a los productos convencionales, especialmente en poblaciones con acceso limitado a atención odontológica.

CONCLUSIONES

1. Se formuló el gel dental de limpieza con la mezcla de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón risso), en base a su Concentración mínima inhibitoria y se evaluó su actividad antibacteriana *in-vitro* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, mediante el método de Kirby Bauer modificado, siendo el gel dental a una concentración total de aceite esencial al 1% evidenciada por un halo de inhibición promedio de 16.3mm, la que presentó mayor actividad antibacteriana a diferencia de los demás geles dentales formulados.
2. Se caracterizó organoléptica y fisicoquímicamente los aceites esenciales. El aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico) dio como resultado un color amarillo pálido, olor intenso a menta y alcanfor, sabor astringente-picante, pH 5, densidad 0.9088 g/mL, índice de refracción 1.4999, rotación óptica 30 (D) e índice de acidez 0.2244, asimismo, demostró ser totalmente soluble en hexano, bencina, cloroformo, acetona, metanol y Tween 80 e insoluble en agua destilada. En cuanto al aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* (Limón risso) dio como resultado un color ligeramente amarillento, olor cítrico fresco, sabor cítrico no picante, pH 4.8, densidad 0.8454 g/mL, índice de refracción 1.4711, rotación óptica 55.8 (D) e índice de acidez 1.3464, demostró ser totalmente soluble en hexano, bencina, cloroformo, acetona, metanol y Tween 80 e insoluble en agua destilada.
3. Se identificó la composición química de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón risso) mediante análisis cromatográfico. En el aceite esencial de *Piper aduncum* se identificaron 30 componentes químicos, siendo los principales: β -Ocimeno (13.7%), Metileugenol (10.8%), Eucaliptol (10.8%), Bicyclogermacreno (8.0%), Trans- β -Ocimeno (6.6%), trans-Germacreno (5.9%) y Asarona (5.9%). En cuanto al aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* se identificaron 30 componentes químicos, siendo los principales: Limoneno con un 29.1%, Sabineno con un 17.7%, Citronelal con un 10.5%, Linalol con un 5.4%, β -ocimeno con un 5.3%, β -Pino con un 3.3% y β -Mirceno con un 3.2%.
4. Se determinó la actividad antibacteriana *in-vitro* de cada aceite esencial, por el método de macrodilución frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ambos aceites esenciales presentaron una Concentración Mínima inhibitoria (CMI) del

50%, indicando que a esta concentración ambos son capaces de inhibir el crecimiento bacteriano de manera efectiva.

5. Basándose en las concentraciones mínimas inhibitorias de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón risso), se diseñaron y preformularon los geles dentales de limpieza, llegando a formular tres geles dentales que presentaron mejores características organolépticas y fisicoquímicas.
6. Se evaluaron las propiedades organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas de los geles dentales formulados con los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón risso), donde se verificó que las formulaciones cumplen con los criterios establecidos según reglamento. En los ensayos organolépticos, las tres formulaciones mostraron un color azul, olor cítrico suave, sabor dulce-fresco, además de una consistencia media; en los ensayos fisicoquímicos, nuestras formulaciones fueron homogéneos, translúcidos, extensibles, semisólidas, pH dentro del rango normal y estables, en lo que respecta a los ensayos microbiológicos, los tres geles dentales presentaron ausencia total de los microorganismos contaminantes.
7. Se determinó la actividad antibacteriana *in-vitro* mediante el método de Kirby Bauer Modificado de los tres geles dentales formulados frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. El gel dental con 1% de concentración total de aceites esenciales mostró el mayor halo de inhibición, con un diámetro promedio de 16.3 mm, acercándose al gel patrón (Colgate), que presentó un halo de 21.5 mm. En contraste, las formulaciones con 2% y 3% de aceites esenciales mostraron halos de inhibición menores, con diámetros de 14.1 mm y 13.4 mm respectivamente, evidenciando una disminución en la eficacia antimicrobiana al aumentar la concentración del aceite esencial.
8. Se determinó la actividad antibacteriana del gel dental con aceite esencial al 1% por el método de macrodilución para hallar la concentración mínima inhibitoria frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, siendo la concentración mínima inhibitoria del 3,13% que impide el crecimiento visible de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Posterior a ello, se determinó que la combinación de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón risso) produce un efecto sinérgico en la actividad antimicrobiana, según el valor del índice de fraccionamiento inhibitorio combinado (FICI = 0.0626).

SUGERENCIAS

A LAS AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- ✓ Promover la creación e implementación de centros de investigación.
- ✓ Gestionar recursos humanos para el funcionamiento del Herbario Vargas CUZ con el objetivo de realizar colaboraciones científicas y además brindar el servicio de determinación y certificación taxonómica de las especies vegetales.
- ✓ Agilizar en la adquisición de repuestos para el equipo de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.
- ✓ Implementar el área de microbiología en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica para evitar la contaminación cruzada en los productos elaborados.

A LOS DOCENTES UNIVERSITARIOS

- ✓ Fomentar el estudio y la realización de proyectos de investigación en el área de plantas medicinales, así como desarrollar nuevas formas farmacéuticas con el objetivo de descubrir nuevas alternativas terapéuticas.
- ✓ Incentivar a la participación de publicaciones de trabajos científicos en revistas certificadas en la web, que posteriormente podrían servir como fuente certera de antecedentes a nivel mundial.

A LOS INVESTIGADORES

- ✓ Continuar con el estudio de los geles dentales formulados a base de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO) aplicado en un estudio experimental *in vivo*.
- ✓ Realizar estudios de toxicidad de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri Lush*. (LIMÓN RISSO) con el fin de comprobar su inocuidad a largo plazo.
- ✓ Realizar el estudio sobre propiedades farmacológicas, en especial la actividad antimicótica, del sinergismo de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (MATICO) y *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO) frente al hongo *Cándida albicans* y plantear una nueva fórmula destinada al tratamiento de afecciones bucales como el muguet oral.
- ✓ Plantear y formular nuevos productos fitoterapéuticos que contengan poca cantidad de insumos sintéticos, aprovechando la mega diversidad de flora de nuestra Región.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sabini MC, Menis Candela F, Beoletto V. Historia de las Plantas Medicinales. In.: Ministerio de Ciencia y Tecnología de la provincia de Córdoba; 2019. p. 11-20.
2. Sanchez Araujo AL. Prevalencia de caries dental en escolares de nivel primario de la institución educativa 18006 Pedro Catro Alva. Tesis. Chachapoyas: Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Facultad de Ciencias de la Salud; 2018.
3. Falcon Condori A. EFECTO TERAPEUTICO DE LA PASTA DENTAL A BASE DE PIPER ADUNCUM (MATICO) COMO COADYUDANTE DEL TRATAMIENTO PERIODONTAL EN LA CLINICA ODONTOLÓGICA. Tesis. Huánuco: Universidad Nacional "Hemilio Valdizcan", Facultad de Medicina; 2017.
4. Organización Mundial de la Salud. Salud Bucodental. [Online].; 2022 [cited 2023 Junio 2. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>.
5. Ministerio de Salud. MINSA. [Online].; 2019 [cited 2023 Junio 2. Available from: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/45475-el-90-4-de-los-peruanos-tiene-caries-dental>.
6. Fornaris Hernández A, Rivera Ledesma E, Guerrero Marín E. Prevalencia de caries dental y nivel de conocimientos sobre salud bucal. Secundaria Básica: Antonio Maceo. Rev Med Electrón. 2018 Abril; 40(4).
7. Catalá Pizarro M, Cortés Lilio O. La caries dental: Una enfermedad que se puede prevenir. Elsevier. 2014 Mayo; 12(3).
8. Graus Rios RY. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE Piper aduncum (MATICO) FRENTE A CEPAS DE Streptococcus mutans ATCC 25175. Tesis. Trujillo: Universidad Católica Los Ángeles, Escuela Profesional de Odontología; 2019.
9. Ingaroca S, Castro A, Ramos N. Composición química y ensayos de actividad antioxidante y del efecto fungistático sobre Candida albicans del aceite esencial de Piper aduncum L. "Matico". Rev. Soc. Quim. 2019 Abril; 85(2).
10. Britos M, Chamorro E, Cáceres M, Fernandez D. Aceites esenciales con actividad antibacteriana: posible aplicación y administración en odontología. Odontología Vital. 2021 Julio; 2(35).
11. Miguel Lopez VM, Rojas Gonzales ND. Plantas medicinales utilizadas para afecciones en estomatología en los consultorios dentales del distrito de Huancayo. Tesis. Huancayo: Universidad de Roosevelt, Escuela Profesional de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica; 2016.
12. Ingaroca Tejeda SP. Composición química, actividad antioxidante y efecto fungistático sobre Candida albicans del aceite esencial de Piper aduncum L. "matico". Tesis. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2018.
13. Lazo Meneses GA. Problemática actual en salud bucal en el Perú. Scientiarvm. 2017 Julio; 3(2).
14. Muñoz Sanchez J. Higiene bucodental. Pastas dentífricas y enjuagues bucales. Elsevier. 2020 Marzo; 19(3).

15. Picó Monllor JA. Cosmetotecnia de los dentífricos. Relevancia del comportamiento reológico. Tesis doctoral. Valencia: Universidad de Valencia, Facultad de Farmacia; 2016.
16. Sadurní J. El origen de la pasta de dientes. [Online].; 2020 [cited 2023 Junio 23. Available from: https://historia.nationalgeographic.com.es/a/origen-pasta-dientes_15597.
17. Paredes Inocente DL. Estudio comparativo de dos pastas dentales con y sin flúor en la disminución de microorganismos causantes de la caries dental. Tesis. Cerro de Pasco: Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Instituto Central de Investigación; 2018.
18. Oré Areche F, Ruiz Rodríguez A, Corilla Flores DD. Piper aduncum L. (matico) utilizado como tratamiento para el daño pulmonar y Covid-19. Revista de Salud. 2021 Diciembre; 4(12).
19. García M. Limón Peruano. [Online]. [cited 2023 Junio 23. Available from: <https://www.agrogms.com/es/productos/limon-peruano>.
20. Froés Magalhaes C. Actividad antimicrobiana de los extractos de hojas de Piper aduncum contra las bacterias de la placa dental Streptococcus mutans y Streptococcus sanguinis. Investigación de Plantas Medicinales. 2016 Junio; 10(23).
21. Olluwasyo E. O, Nureni O. O, Vinesh J. M. Examen químico del aceite esencial de tallos, raíces y cáscaras de frutos de nigeriano (Citrus jambhiri). Tesis. Nigeria: Universidad de Pretoria, Departamento de Química; 2019.
22. Pinto Alcon OB. Obtención de aceite esencial a partir de cáscaras de limón para la industria cosmética a nivel bench scale. Tesis. La Paz-Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Ingeniería Química; 2020.
23. Ridzuan PM, Badhrulhishan A, Kausar A. Efecto inhibidor antimicrobiano in vitro de las hojas de Piper aduncum, extractos sobre bacterias y hongos. Tesis. Malasia: Universidad Sultan Zainal, Facultad de Medicina; 2021.
24. Guale Cabal AA, Mielles Burgos JD. Aplicación de aceites esenciales de cortezas de limón sutil (Citrus Aurantifolia Swingle) y rugoso (Citrus jambhiri) como inhibidores de crecimiento patógenos E. coli y Salmonella. Tesis. Manabí-Ecuador: Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Facultad de Ciencias Agropecuarias; 2020.
25. Montesdeoca Vique LE. Diseño, formulación y control de calidad de un dentífrico anticariogénico a base de cannabidiol. Tesis. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Carrera de Farmacia y Bioquímica; 2024.
26. Guzmán Suarez MR. La caries dental en relación con el pH salival, dieta e higiene dental. Revista Académica y Científica de la Universidad Privada Abierta Latinoamericana. 2019 Agosto.
27. Iturriaga Diaz GÁ, Bustos Gómez CI. Evaluación de la estabilidad de un gel mucoadhesivo formulado con extracto de S. Aromaticum y H. Longipes. Revista de Divulgación Científica. 2018.
28. López Gamboa Y, Arteaga Yáñez Y, Ortega Guevara N. Formulación de un gel dentífrico de Aloe Vera L. con propiedades medicinales. Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas. 2023 Enero.
29. Zanolli Bernuci K, Iwanaga CC, Fernández Andrade C. Evaluación de la composición química y de las actividades antileishmaniales y antituberculosas de los aceites

- esenciales de especies de Piper. Tesis. Brasil: Universidad Estatal de Maringá, Departamento de Fitotecnia; 2016.
30. Valarezo Valdez BE, Carrión Chamba DT. Composición química, propiedades físicas y actividad biológica del aceite esencial de limón. Tesis. Loja-Ecuador: Universidad Técnica Particular de Loja; 2019.
 31. García Sandoval DM, Llanos Escobar AR. Efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de Piper Aduncum (Matico) sobre Streptococcus mutans ATCC 25175, in vitro. Tesis. Lima: Universidad María Auxiliadora, Escuel Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2023.
 32. Fernández Rosillo F, Quiñones Huatangari L, Ojeda Gaona TS, Alfaro Montero DdP. Rendimiento de extracción por hidrodestilación del aceite esencial de Piper aduncum L. (matico) mediante un modelo cinético. Revista Científica Dékamu Agropec. 2024.
 33. Romero Castillo YJ. EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE Citrus Limon (LIMÓN) Al 75% y 100% SOBRE CEPAS DE Streptococcus mutans ATCC 25175 Y Streptococcus sanguis ATCC 10556 TRUJILLO, 2018. Tesis. Trujillo: Universidad Católica Los Ángeles, Facultad de Ciencias de la Salud; 2020.
 34. Saravia Salas KG, Vargas Arizapana AA. Extracción de aceite esencial de Matico (Piper aduncum) por arrastre de vapor y evaluación in vitro de su efecto fungicida en Colletotrichum gloeosporioides. Tesis. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín, Departamento Académico de Ingeniería Química ; 2023.
 35. Olano Tirado R. Valorización de aceite vegetal usado para la elaboración de jabón antibacteriano con esencia de matico (Piper aduncum), Pachacamac. Tesis. Lima: Universidad César Vallejo, Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental; 2023.
 36. Huaracca Vilca VV, Arce Santos DL. Comparación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico del Piper aduncum (Matico) en materia seca y fresca frente a Streptococcus mutans. Tesis. Puno: Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Ciencias de Salud; 2024 Junio.
 37. Correa Palacios KG, Díaz Medina SD. Evaluación de la aceptabilidad de una bebida a base de matico (Piper aduncum) y manzanilla (Chamaemelum nobile). Tesis. Chimbote: Universidad César Vallejo, Escuela Profesional de Ingeniería Industrial; 2021.
 38. Janampa Torres RA, Loo Guillen OYw. Evaluación in vitro del efecto bactericida del Piper aduncum "matico" frente a Klebsiella pneumoniae ATCC BAA1706 y Staphylococcus aureus ATCC 25923. Tesis. Lima: Universidad Científica del Sur; 2023.
 39. Morocco Quispe SK. Caracterización micro-histológico, físico y químico del aceite esencial de las hojas de matico (Piper aduncum), extraído por arrastre de vapor en un equipo modular. Tesis. Puno: Universidad Nacional del Altiplano; 2017.
 40. Ingaroca Tejeda SP. Composición química, actividad antioxidante y efecto fungistático sobre Candida albicans del aceite esencial de Piper aduncum L. "matico". Tesis. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2018.
 41. Aguilar Ancori EG, Aguilar Ancori KV, Vladimir Mamani G. Actividad antibacteriana frente a Streptococcus mutans de aceites esenciales de cinco plantas alto andinas. 2018 Abril.
 42. Tupayachi Palomino AC. Composición química y su efecto antimicrobiano del aceite esencia de Citrus limon (L) Osbeck sobre cepas de Staphylococcus aureus,

- Pseudomonas Aeruginosa y Escherichia coli. Tesis de Posgrado. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2024.
43. Baca Zans LK, Yábar Fluker A. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE: Foeniculum vulgare (HINOJO), Cimbopogon citrus (HIERBA LUISA), Origanum vulgare (ORÉGANO), Citrus aurantifolia swingle (LIMÓN) Y Citrus sinesis (NARANJA), FRENTE A CEPAS DE Streptococcus mutans. Tesis. Cusco: Universidad Andina del Cusco, Facultad de Ciencias de la Salud; 2016.
 44. Cardona Rivero AK, Villena Tejada M, Vera Ferchau K, Vera Ferchau I. Actividad Antibacteriana y Citotoxicidad de Cinco Especies Vegetales de la Zona Altoandina y Amazónica de la Región del Cusco. 2021; 4(2).
 45. Urrunaga Ormachea M, Jiménez CdC, Gutierrez Chavez G, Tomaylla Cruz C. Propiedades fisicoquímicas, composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de Citrus jambhiri (Limón rugoso). Rev Soc Quim Perú. 2022 Octubre.
 46. Riquelme Quispe L, Zvietcobich Guerra ME, Ramírez Bengoa S, Ojeda Rondan KV. Efecto antibacteriano de los aceites esenciales de Syzygium aromaticum, Minthostachys mollis y Jungia rugosa Less sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175.. Revista Peruana de Medicina Integrativa. 2023 Diciembre.
 47. Ventura R. Familia Piperaceae. Matico. [Online]. [cited 2023 Junio 23. Available from: <https://es.scribd.com/doc/142133001/MATICO>.
 48. Botánica. Características del Matico. [Online].; 2022 [cited 2023 Junio 23. Available from: <https://www.botanical-online.com/botanica/pimienta-matico-aduncum-caracteristicas>.
 49. Especies de Plantas. Piper aduncum. [Online].; 2023 [cited 2023 Junio 23. Available from: <https://antropocene.it/es/2023/02/28/piper-aduncum-3/>.
 50. Arenas Barrientos G. Jardín Botánico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. [Online].; 2015 [cited 2023 Junio 23. Available from: <https://jardinbotanicoffybb.jimdofree.com/clasificaci%C3%B3n-por-nombre-cient%C3%ADfico/piper-aduncum/#>.
 51. Taxonomía. Citrus Limonum Risso. [Online].; 2019 [cited 2023 Junio 24. Available from: <https://www.gbif.org/es/species/101427824>.
 52. Fundación Integra. Citrus limón. [Online].; 2021 [cited 2023 Junio 24. Available from: https://www.regmurcia.com/servlet/s.SI?sit=c,365,m,1050&r=ReP-5154-DETALLE_REPORTAJES.
 53. Vegas Rodriguez U, Narrea Cango M. Manejo Integrado del Cultivo de Limón. Piura: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2019.
 54. Cultivo de Limón. Citrus limón. [Online].; 2015 [cited 2023 Junio 24. Available from: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/Bol_Insumos_nov_2015.pdf.
 55. Minagri. Región exportadora de Limón. [Online].; 2020 [cited 2023 Junio 24. Available from: <https://www.gob.pe/institucion/midagri/noticias/76585-piura-se-consolida-como-primera-region-exportadora-de-limon>.
 56. González F. Uso Medicinal del Limón. 2020 Noviembre.

57. Citrus limon. Limón. [Online]. [cited 2023 Junio 25. Available from: https://www.mapa.gob.es/es/ministerio/servicios/informacion/limon_tcm30-102531.pdf.
58. García Lidón Á, Porras Castillo I. El limón y sus componentes bioactivos. Universidad de Murcia, Departamento de Biología Vegetal.
59. Lemos JA, Palmer S, Zeng L, Wen Z. La biología de Streptococcus mutans. Microbiology Spectrum. 2019.
60. Checalla Collatupa JL, Sánchez Tito MA. Actividad antibacteriana de un extracto etanólico de propóleo peruano frente a Streptococcus mutans. 2019 Julio.
61. Carrol K, Morse S, Mietzner T, Miller S. Microbiología Médica. 27th ed. México: Mc Graw Hill Education.
62. Taroco R, Seija V, Vignoli R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. In. p. 663.
63. Marian D, Del Arco J. Geles. [Online]. [cited 2023 Agosto 2. Available from: <https://botplusweb.farmaceuticos.com/documentos/2016/11/29/104989.pdf>.
64. Formulario Nacional. Procedimiento de elaboración de formas farmacéuticas. [Online]. [cited 2023 Agosto 2. Available from: https://www.sefh.es/pn/procedimientos_elaboraci%C3%B3n/pn_geles.pdf.
65. Méndez Lema E. Elaboración, control de calidad y evaluación "in vivo" de la actividad antibacteriana de un gel obtenido del extracto alcaloidal del Chocho. Tesis. Riobamba-Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Escuela de Bioquímica y Farmacia.
66. Rodríguez Álvarez M, Alcaraz Meléndez L, Real Cosío M. Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. México: Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.
67. Clínica Universidad de Navarra. Diccionario Médico. Antibacteriano. [Online]. [cited 2023 Agosto 2. Available from: <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/antibacteriano>.
68. ATCC. Microorganismos auténticos. [Online]. [cited 2023 Agosto 3. Available from: <https://www.atcc.org/>.
69. Real Academia Española. Cardiogénico. [Online]. [cited 2023 Agosto 3. Available from: <https://dle.rae.es/cariog%C3%A9nico>.
70. Unilabs. Cepa. [Online].; 2021 [cited 2023 Agosto 3. Available from: <https://www.unilabs.es/glosario/cepa#:~:text=>
71. Concentración Mínima Inhibitoria. ¿Qué es el CMI o MIC? [Online].; 2021 [cited 2023 Agosto 3. Available from: <https://ulceras.net/articulo.php?id=235>.
72. Cajas Uquillas PD. Elaboración y estudio de estabilidad de un gel de ácido salicílico utilizando como gelificante quitosano. Tesis. Quito: Universidad Central del Ecuador, Farmacia y Bioquímica; 2013.
73. García Valdéz E. Medios de Cultivo. [Online]. [cited 2023 Agosto 3. Available from: <https://www.uib.cat/depart/dba/microbiologia/seminarios/1%20Medios%20de%20cultivo.pdf>.

74. Estudio Dental Barcelona. Qué es el biofilm dental y cómo controlarlo. [Online].; 2017 [cited 2023 Agosto 2. Available from: <https://estudidentalbarcelona.com/biofilm-dental-controlarlo/>.
75. Baca Zans LK, Yábar Fluker A. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE: *Foeniculum vulgare* (HINOJO), *Cymbopogon citratus* (HIERBA LUISA), *Origanum vulgare* (ORÉGANO), *Citrus aurantifolia* swingle (LIMÓN) Y *Citrus sinensis* (NARANJA), FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans*. Tesis. Cusco: Universidad Andina del Cusco, Facultad de Ciencias de la Salud; 2016.
76. Gavilanes Quizhpi , Aguirre Yela , Delgado Rodriguez. Determinación de la acción del azufre nanoencapsulado en liposomas aplicado al cultivo in vitro del hongo *Botrytis fabae*. Revista CIENCIA. 2019: p. 60-72.
77. Alberca Rosillo H. Estudio Etnobotánico Medicinal en el Caserío San José. Tesis. Universidad Nacional de Cajamarca; 2023.
78. Exportación de Cítricos Peruanos. [Online]. [cited 2024 Abril 11. Available from: <https://web.splogistics.com/es/logistica-peru/exportacion-de-citricos-peruanos>.
79. Olivera Delgado LI, Gutierrez Felix G. Evaluación de la actividad antimicrobiana “In vitro” sobre cuatro cepas ATCC y determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña). Tesis. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias de la Salud; 2021.
80. Casado Villaverde I. Optimización de la extracción de aceites esenciales por destilación en corriente de vapor. Tesis. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid, Departamento de Ingeniería Industrial; 2018.
81. Valazque Carrasco JC. Evaluación de la actividad antimicótica del esmalte de uñas elaborado usando el aceite esencial del *Origanum vulgare* L. (Orégano) frente *Trichophyton rubrum* ATCC 28188. Tesis. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias de la Salud; 2019.
82. Arenas P. Medición de la Densidad Bogotá: Organización Internacional de Metodología Legal; 2011.
83. Arriola Gomez G, Monjaras Blanco MH. Comprobación de pureza de los aceites comestibles de diferentes marcas comerciales en el area metropolitana. Tesis. El Salvador: Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia.
84. Fuertes Ruitón , Munguía Chipana. Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) muña de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrometría de masas..
85. Norma Cubana. Aceites Esenciales-Determinación de la rotación óptica (ISO 592: 2005). Oficina Nacional de Normalización. ; 1(2).
86. Rodríguez Arzave J, Ruiz Loaiza L, Santoyo Stephano M. Determinación del índice de acidez y acidez total de cinco mayonesas. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos. 2016; 1(2).
87. Maita Vásquez JJ, Guerra Dávila PJ. Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Ruta graveolens* (Ruda), mediante el método de macrodilución frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Tesis. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2015.

88. Zagaceta García JF. Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de hojas de *Chamaesyce thymifolia* frente a cepas bacterianas por los métodos de difusión en agar y macrodilución. Tesis. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2017.
89. Karakoz Z, Badekova , Gayane A. Formulación de un gel dental a base de *Origanum vulgare* con actividad antimicrobiana. Revista de Ciencias Médicas de la Universidad de Taibah. 2021 Octubre: p. 712-718.
90. Decreto Supremo N° 021-2018-SA. Decreto Supremo que modifica el Reglamento para el Registro, Control y Vigilancia Sanitaria de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios y aprueba el Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos. [Online].; 2018 [cited 2024 Abril 11. Available from: <https://www.digemid.minsa.gob.pe/webDigemid/normas-legales/2018/decreto-supremo-n-021-2018-sa/>.
91. USP 35. Cagantía de Calidad en compuestos Farmacéuticos. [Online]. [cited 2024 Abril 11. Available from: <http://www.triphasepharmasolutions.com/Private/USP%20163%20QUALITY%20ASSURANCE%20IN%20PHARMACEUTICAL%20COMPOUNDING.pdf>.
92. Huaman Huaman C, Palacios Nonalaya LE. Elaboración de una pasta dental a base del extracto etanólico del fruto de *Physalis peruviana*. Tesis. Lima: Universidad María Auxiliadora, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2019.
93. Warnida H, Ade J, Yullia S. Formulación del extracto de *Bawang Dayak* (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) en una pasta de dientes en gel. Revista de Farmacia. 2016 Diciembre: p. 42-49.
94. Fernandez Montes EA. Estabilidad y Control de Calidad de Fórmulas Magistrales. Primera ed. Alía E, editor.
95. Muangsiri W, Werawatganona P, Sailo , Thaipitakwong T. Formulación y evaluación de geles y pastillas dentales que contienen xilitol para la caries dental. Revista de Ciencias Farmacéuticas Aplicadas. 2022 Septiembre.
96. Mendoza Medina LJ, Quispe Gutiérrez MT. Formulación de un colutorio a base de los extractos hidroalcohólicos de *Physalis peruviana* (Aguaymanto) y *Equisetum bogotense* Kunth (Cola de caballo), actividad in-vitro sobre *Streptococcus mutans* y evaluación de la irritabilidad de la mucosa oral. Tesis. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias de la Salud; 2022.
97. Niyogi P, Maharana L, Pattnaik S. Desarrollo de la formulación y evaluación in vitro de un gel dental que contiene extracto etanólico de *tephrosia purpurea* linn. Revista Internacional de Farmacia y Ciencias Farmacéuticas. 2016 Agosto.
98. Price R, Sedarous M, Hiltz G. El pH de los productos para blanquear los dientes. Investigación aplicada..
99. Aldás Paredes I. Elaboración de gel antibacteriana a partir de alcohol artesanal con hidrolato de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y aceite esencial de naranja (*Citrus spp.*). Tesis. Ambato-Ecuador: Universidad Técnica de Ambato, Carrera de Ingeniería Bioquímica; 2022.

100. USP. Formulario Nacional de Farmacopea. [Online].; 2017 [cited 2023 Agosto 30. Available from: <https://www.iberlibro.com/9781936424603/U.S-Pharmacopeia-National-Formulary-2017-1936424606/plp>.
101. Ayala Jara CI, Izaguirre Pasquel VL. Desarrollo de un gel dental con extracto de propóleo y evaluación de su eficacia en el tratamiento de gingivitis marginal. Tesis. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, Escuela de Postgrado de Farmacia y Bioquímica.
102. Laboratorio de Microbiología. Control microbiológico de materias primas y productos farmacéuticos no estériles. [Online]. [cited 2024 Septiembre 26. Available from: <https://es.scribd.com/doc/34898599/Control-Microbiologico-de-Materias-Primas-y-Productos-Farmaceuticos-No-Esteriles>.
103. Farmapea de los Estados Unidos (USP) . [Online].; 2020.
104. Carhuancho González PE, Huarcaya Estrada JW. Efecto antibacteriano a diferentes concentraciones del extracto etanólico del fruto de *Capsicum pubescens* "rocoto" en cepas estándares. Tesis. Lima: Universidad Norbert Wiener, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2018.
105. Aguilar Firata RM, Rendón Anaya R. Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin y Clemants (Paico) y *Tagetes multiflora* kunth (Chicjchipa) frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, elaboración de una forma farmacéutica. Tesis. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2018.
106. Carrillo Tomalá C, Díaz Torres R, Guerra Guamán K, Román Salmerón A. Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de las hojas de dos variedades de *Mangifera indica* L. Revista Ciencia UNEMI. 2020 Enero-Abril.
107. Canut Blasco A, Collazos Blanco A, Díez Aguilar M. Métodos microbiológicos para la determinación in vitro de la actividad de combinaciones de antimicrobianos Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R, editors. Madrid; 2020.
108. Media, Mediana y Moda. Investigación. [Online].; 2024 [cited 2024 Agosto 15. Available from: https://www.questionpro.com/blog/es/la-media-la-mediana-y-la-moda/#Que_es_la_media.
109. Universidad Nacional Autónoma de México. Analisis de Varianza. [Online].; 2018 [cited 2023 Noviembre 9. Available from: <https://es.slideshare.net/Panchitoguapo1/analisis-de-varianza-unam>.
110. Navarro P, Ottone N, Acevedo C, Cantín M. Pruebas estadísticas utilizadas en revistas odontológicas de la red SciELO. Avances en Odontoestomatología. 2017 Enero; 33(1).
111. Solubilidad de grasas. Phywe. [Online]. [cited 2024 Septiembre 10. Available from: https://www.phywe.com/es/experimentos-sets/experimentos-para-la-escuela-primaria/solubilidad-de-las-grasas_9911_10842/.
112. Chévez Tepas ZDR. Efecto del pH en la actividad antimicrobiana del aceite esencial de mostaza blanca contra microorganismos de interés en alimento. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Carrera de Agroindustria Alimentaria; 2018.
113. Medición de índice de refracción. Hanna instruments. [Online]. [cited 2024 Septiembre 15. Available from: <https://www.hannacolombia.com/blog/post/889/medicion-indice-refraccion?srsltid=AfmBOoq7LagFcLfqTC2SmVKpTnUIIVxvFH5x4C5930clmiT-clDTdZtga>.

114. Zambón S, Chamorro E, Casuscell S. Estudio de la Pureza Óptica de Citronelal presente en los Aceites Esenciales obtenidos de Citronela y de Eucalipto Citriodora. Información Tecnológica. 2015; 26(4).
115. Rodríguez Arzave J, Florido Aguilar A, Hernández Torres M. Determinación de parámetros fisicoquímicos en jugos de frutas cítricas. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos. 2020.
116. Pérez Esteve E, Rivas Soler A. Determinación de la sensibilidad de los microorganismos frente a antimicrobianos de origen natural y la concentración mínima inhibitoria (CMI) por métodos fenotípicos. Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Tecnología de los Alimentos.
117. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos. [Online]. [cited 2024 Septiembre 13. Available from: <https://antigo.anvisa.gov.br/documents/106351/107910/Gu%C3%ADa+de+Estabilidad+d e+Productos+Cosm%C3%A9ticos/dd40ebf0-b9a2-4316-a6b4-818cac57f6de>.

ANEXOS

ANEXO N°1: IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES VEGETALES POR EL INSTITUTO CIENTÍFICO MICHAEL OWEN DILLON (IMOD)

	<p>INSTITUTO CIENTIFICO MICHAEL OWEN DILLON (IMOD) Investigación, Conservación, Educación y Transformación de Recursos Reconocido por Resolución de Dirección General Nro. 140-2016-SERFOR/DGGSPFFS</p>	
<p>" Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho "</p> <p>CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN N° 011-2024</p>		
<p>El Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD).</p>		
<p>HACE CONSTAR:</p>		
<p>Que las muestras presentadas por Yendira Huaman Condori y Yaquelin Miluska Oraica Atausinchi, recolectadas en el distrito Yanatile, provincia de Calca, departamento de Cusco, en las coordenadas S 12 16' 39" y O 71 54' 23" y altitud de 1124 m, para la realización de la tesis titulada: "FORMULACIÓN DE UN GEL DENTAL DE LIMPIEZA A BASE DE LOS ACEITES ESENCIALES DE <i>Piper aduncum</i> (MATICO) y <i>Citrus jambhiri</i> (LIMÓN RISSO) Y DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD IN-VITRO FRENTE A LA CEPA DE <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175". Presentada en la Universidad San Antonio Abad del Cusco, fueron determinadas taxonómicamente en las instalaciones del Herbario Sur Peruano (HSP), del Instituto Científico Michael Owen Dillon, corresponden a:</p>		
<p>Clase: Equisetopsida C. Agardh Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht. Orden: Piperales Bercht. & J. Presl Familia: Piperaceae Giseke Género: <i>Piper</i> L. Especie: <i>Piper aduncum</i> L.</p>		
<p>Orden: Sapindales Juss. ex Bercht. & J. Presl Familia: Rutaceae Juss. Género: <i>Citrus</i> L. Especie: <i>Citrus x jambhiri</i> Lush.</p>		
<p><small>Dirección: Av. Jorge Chávez No. 610 Cercado, Arequipa - Perú Correo: imod.per@gmail.com</small></p>		



INSTITUTO CIENTIFICO MICHAEL OWEN DILLON (IMOD)

Investigación, Conservación, Educación y Transformación de Recursos
Reconocido por Resolución de Dirección General Nro. 140-2016-SERFOR/DGGSPFFS



La clasificación se ha realizado según la propuesta por: *Angiosperm Phylogeny Group (APG) IV* en "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV" (2016).

Se expide la presente a solicitud de las interesadas para los fines que estime conveniente.

Arequipa, 23 de agosto de 2024.



Dr. Blgo. Víctor Quipuscoa Silvestre

C.B.P. N° 2484

Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD)
Herbario Sur Peruano (HSP)
vquipuscoa@hotmail.com
vquipuscoa@imod.org.pe



ANEXO N° 2: COTIZACIÓN DE LA CEPA BACTERIANA



COTIZACION GL - 24 / 065263

FECHA: lunes, 17 de Junio de 2024
CLIENTE: UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
ATENCION: YENDIRA HJAMAN CONDORI - 161437@unsaac.edu.pe

REFERENCIA: Cepa
 Los Precios Incluyen I.G.V. (18%) de Ley

PRECIO: **NUEVOS SOLES**
 ENTREGA: **A 60 DIAS**
 VALIDEZ PAGO: 7 DIAS
FACTURA 15 DIAS

CODIGO	PRODUCTO	PRECIO UNITARIO S/.	CANT	PRECIO TOTAL S/.
	KWIK-STIK Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™ Marca: Microbiologics Cod. Proveedor: 0266P			
H05666-A	Presentación: Pack de 2 cepas liofilizadas no mayor al 3er pasaje + Certificado de Análisis. Expira: No menor a 06 meses.	578.92	1	578.92
TOTAL			578.92	

Ver términos y condiciones

BLGO. ANTONY CUYA
 Asesor Comercial
 acuya@genlabperu.com

Realice el pago con cheque a nombre de GEN LAB DEL PERU S.A.C., en caso de Depósito Bancario, realice el abono en nuestra Cuenta Bancaria:
 Banco Continental - Soles 0011-0139-0100024183-34 ó Banco BCP - Soles 193-1440607-0-84
 CCI Continental - Soles 011-139-000100024183-34 ó CCI Banco BCP - Soles 002-193-001440607084-18

Jr. Capac Yupanqui N° 2434 - (Alt. Cdra. 8 Av. 2 de Mayo) - Lince - Lima 14 PERU
 Telf.: 2037500 / 2037504 TeleFax: (51-1) 2037501
 e-mail: ventas@genlabperu.com

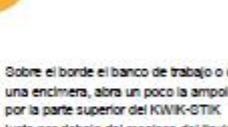
ANEXO N° 3: ACTIVACIÓN DE LA CEPA BACTERIANA DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175

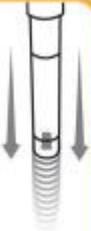
KWIKSTIK™ **KWIKSTIK™ plus**

INSTRUCCIONES ILUSTRADAS

- 

Deje que la bolsa de KWIK-STIK se ponga a temperatura ambiente sin abrirla. Abra la bolsa rasgándola por la ranura y saque la unidad KWIK-STIK.
- 

Arranque la parte de la lengüeta de la etiqueta y péguela a la placa del cultivo primario o al informe de control de calidad. No desmonte el dispositivo durante la hidratación.
- 

Sobre el borde el banco de trabajo o de una encimera, abra un poco la ampolla por la parte superior del KWIK-STIK. Justo por debajo del menisco del líquido de la ampolla que se encuentra en la tapa para liberar el líquido hidratante.
- 

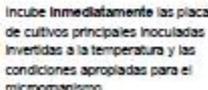
Sujételo verticalmente y golpee suavemente sobre una superficie dura para facilitar el flujo del líquido a través del eje y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el pellet.
- 

Pellicando la parte inferior de la unidad, aplaste el pellet en el líquido hasta que la suspensión del pellet sea homogénea.
- 

Empape inmediatamente el bastoncillo en el material hidratado y transféralo al medio de agar adecuado o úselo conforme al SOP del laboratorio.
- 

Inocule la(s) placa(s) de cultivo primario pasando suavemente el bastoncillo por un tercio de la placa.
- 

Con un lazo estéril, forme estrias longitudinales para facilitar el aislamiento de las colonias.
- 

Utilizando la eliminación de residuos biopeligrosos correcta, deseche el KWIK-STIK.
- 

Incube inmediatamente las placas de cultivos principales inoculadas invertidas a la temperatura y las condiciones apropiadas para el microorganismo.

El método de cultivo puede encontrarse en la página del producto en www.micrabiologics.com

ANEXO N° 4: CERTIFICADO DEL ANÁLISIS DE CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE MATICO Y LIMÓN RISSO



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
 FACULTAD DE CIENCIAS
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Cusco, 29 de Octubre del 2024 -36-B233

Solicitante : Yaquelin Miluska Oraica Atausinchi
 Yendira Huaman Condori
 Tipo de Análisis : Perfil de Compuestos orgánicos en aceite esencial
 Método : Cromatografía de Gases GC-MSD.
 Tipo de Muestra : 2 frascos de vidrio con aceite esencial de Limon Risso y Matico
 Almacenamiento : 4 °C.

Aceite esencial de Limon Risso

Pico	Tiempo min	Compuestos orgánicos volátiles (VOC) Librería Nist 11	CAS	Qual	Area	Contenido Relativo %
1	4.70	beta-Thujene	028634-89-1	94	380242	0.4
2	4.86	(+)-α-Pinene	007785-70-8	96	1939050	1.9
3	5.78	Sabinene	003387-41-5	91	18531253	17.7
4	5.85	(-)-beta-Pinene	018172-67-3	97	3494388	3.3
5	6.01	5-Hepten-2-one, 6-methyl-	000110-93-0	90	332533	0.3
6	6.11	.beta.-Myrcene	000123-35-3	94	3319625	3.2
7	6.81	alpha-Terpinene	000099-86-5	97	868344	0.8
8	7.04	m-Cymene	000535-77-3	95	575505	0.5
9	7.24	D-Limonene	005989-27-5	99	30418966	29.1
10	7.37	trans-.beta.-Ocimene	003779-61-1	97	1170403	1.1
11	7.68	beta-Ocimene	003338-55-4	98	5544718	5.3
12	8.00	.gamma.-Terpinene	000099-85-4	97	1692052	1.6
13	8.88	(+)-4-Carene	029050-33-7	98	471452	0.5
14	9.25	Linalol	000078-70-6	96	5643709	5.4
15	10.98	(R)-(+)-Citronellal	002385-77-5	97	10979866	10.5
16	11.78	Terpinen-4-ol	000562-74-3	97	2613132	2.5
17	12.21	.alpha.-Terpineol	000098-55-5	87	557874	0.5
18	12.67	Decanal	000112-31-2	91	315133	0.3
19	13.46	(R)-(+)-beta-citronellol	001117-61-9	98	2443965	2.3
20	13.91	(Z)-Citral	000106-26-3	97	1907665	1.8
21	14.38	Linalyl acetate	000115-95-7	91	771406	0.7
22	14.91	trans-Citral	000141-27-5	96	2642696	2.5
23	17.67	2,6-Octadiene, 2,6-dimethyl-	002792-39-4	98	1066774	1.0
24	18.05	Neryl Acetate(P)	000141-12-8	91	2071584	2.0
25	18.69	Nerol	000106-25-2	91	702165	0.7
26	19.92	Caryophyllene	000087-44-5	99	2555157	2.4
27	22.40	gamma-Elemene	003242-08-8	94	472154	0.5
28	22.74	.beta.-Bisabolene	000495-61-4	94	448013	0.4
29	24.29	(-) gamma-Elemene	029873-99-2	90	458765	0.4
30	39.22	Phytol	000150-86-7	80	296868	0.3

Qual = Porcentaje de coincidencia con la base de datos Nist 11
 CAS = Numero para identificar la molécula

Nota: Los resultados expresa en contenido relativo de compuestos orgánicos volátiles en % presentes en la muestra, se reporta solo la coincidencia mas del 70% (Qual) con la base de datos espectrales de National Institute of Standards and Technology versión 11 (NIST v11)

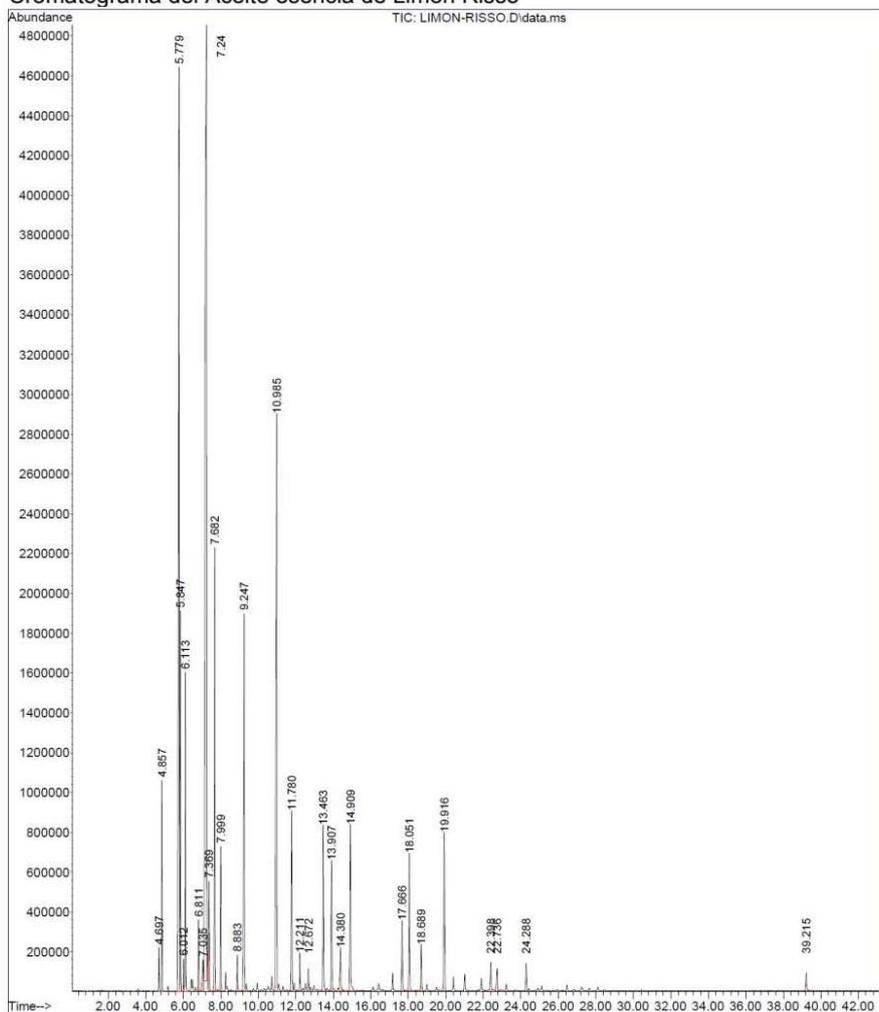


[Firma]
 Químico. Jorge Choquenaira Parí
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría – UNSAAC.
 CQP - 914



RESULTADOS

Cromatograma del Aceite esencia de Limon Risso




Químico. Jorge Choquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría – UNSAAC.
CQP - 914



RESULTADOS

Aceite esencial de Matico

Pico	Tiempo min	Compuestos orgánicos volátiles (VOC) Librería Nist 11	CAS	Qual	Area	Contenido Relativo %
1	4.85	(-)-alpha-Pinene	007785-26-4	96	4420272	3.2
2	5.82	(-)-beta-Pinene	018172-67-3	97	5129043	3.8
3	6.09	.beta.-Myrcene	000123-35-3	94	1561174	1.2
4	6.79	alpha-Terpinene	000099-86-5	97	2014721	1.5
5	7.01	p-Cymene	000099-87-6	97	441514	0.3
6	7.14	D-Limonene	005989-27-5	98	1794030	1.3
7	7.25	Eucalyptol	000470-82-6	99	14709216	10.8
8	7.37	trans-.beta.-Ocimene	003779-61-1	97	8916335	6.6
9	7.72	.beta.-Ocimene	013877-91-3	98	18686281	13.7
10	8.00	.gamma.-Terpinene	000099-85-4	94	3016842	2.2
11	8.87	Terpinolene	000586-62-9	96	750946	0.6
12	12.19	.alpha.-Terpineol	000098-55-5	87	1235689	0.9
13	15.52	Safrole	000094-59-7	98	5876818	4.4
14	18.44	Copaene	003856-25-5	99	690157	0.5
15	18.97	(-)-beta-elemene	000515-13-9	93	1211074	0.9
16	19.46	Methyleugenol	000093-15-2	98	14797455	10.8
17	19.91	Caryophyllene	000087-44-5	99	3891574	2.8
18	20.53	Aromandendrene	000489-39-4	98	404395	0.3
19	21.01	Humulene	006753-98-6	97	1670914	1.3
20	21.22	Myristicin	000607-91-0	97	3357767	2.4
21	21.75	.gamma.-Muuroolene	030021-74-0	99	424430	0.3
22	21.92	trans-Germacrene	023986-74-5	97	8006973	5.9
23	22.41	Bicyclogermacrene	067650-90-2	83	10421943	8.0
24	22.70	.alpha.-Farnesene	000502-61-4	91	2033504	1.5
25	22.93	alpha-Amorphene	000483-75-0	97	491725	0.4
26	23.22	delta-Cadinene	000483-76-1	96	1111253	0.8
27	24.27	.gamma.-Elemene	029873-99-2	95	932922	0.7
28	24.83	Elemicin	000487-11-6	95	9213678	6.7
29	26.83	Bicyclo[4.4.0]dec-1-ene, 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene-	150320-52-8	93	344827	0.3
30	28.00	Asarone	002883-98-9	99	8080681	5.9

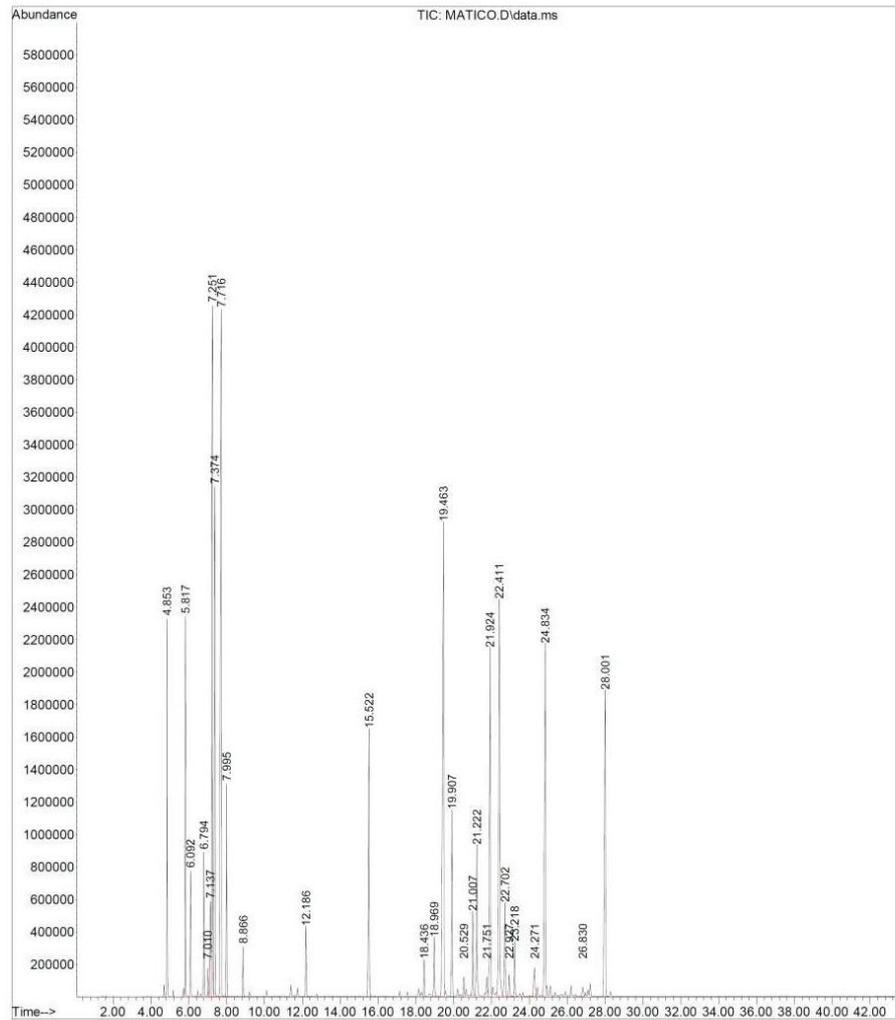



Quinico Jorge Choquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría – UNSAAC.
CQP - 914



RESULTADOS

Cromatograma del Aceite esencial de Matico



Quipico Jorge Choquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría – UNSAAC.
CQP - 914



RESULTADOS

Condiciones de Análisis para Aceite esencial

Cromatógrafo: Agilent 6890N
Software de Control: Chemstation B.030
Detector de Masas: Agilent 5975B
Energía de Ionización: 70eV
Modo de Ionización: Impacto Electrónico (IE)
Modo de escaneo de masas: 40 a 400 uma
Retraso del disolvente: 0.0 minutos
Inyector Automático: Agilent 7683B

Columna: Agilent HP-5MS 5% Fenil Metil Siloxano 30m x 0.25id x 0.5um film

Temperatura del Horno inicial 60 °C, incremento de 4 °C/minuto hasta 230 °C, 1 min 230 °C

Puerto de Inyección

Modo : Split (con división)
Relación de Split : 100:1
Temp. Inicial : 200 °C
Tipo de Gas : Helio
Flujo : 1 mL/min
Tiempo de Análisis : 43.50 min
Volumen de Inyección : 0.1 uL
Muestra inyecta : Puro

Referencia

- Pino Alea. J. A. I Curso Internacional Análisis de Aceites Esenciales Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco 2014.
- Lynam, K. 2014 Potential Allergens in Aromatherapy Oils by GC/MS Using an Agilent J&W DB-XLB Capillary Column Agilent Technologies, Inc. 2850 Centerville Road Wilmington, DE 19808 USA 5990-5293EN



Químico. Jorge Choquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría – UNSAAC.
CQP - 914

ANEXO N° 5: FICHA DE RECOLECCIÓN DE LAS ESPECIES VEGETALES

Especie vegetal:	
Fecha:	
Hora	
CARACTERÍSTICAS	DETALLES
Nombre científico	
Nombre común	
Familia	
Género	
Especie	
Característica principal	
Descripción general	
Cantidad a recolectar	
Lugar de recolección	Región: Provincia: Distrito: Altitud: Temperatura:
Parte utilizada	<input type="checkbox"/> Raíz <input type="checkbox"/> Tallo <input type="checkbox"/> Hoja <input type="checkbox"/> Flores <input type="checkbox"/> Frutos <input type="checkbox"/> Corteza
Nombre Del Recolector(A)	
Observaciones	
.....	
.....	
.....	
.....	
.....	
.....	

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 6: FICHA DE RECOLECCIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD

<i>Piper aduncum</i> "Matico"				
N° DE DETERMINACIONES	PESO DE LA MUESTRA FRESCA	PESO DE LA MUESTRA SECA	% DE HUMEDAD	PROMEDIO DEL % DE HUMEDAD
1				
2				
3				

Fuente: Elaboración propia

<i>Citrus jambhiri</i> Lush "Limón Risso"				
N° DE DETERMINACIONES	PESO DE LA MUESTRA FRESCA	PESO DE LA MUESTRA SECA	% DE HUMEDAD	PROMEDIO DEL % DE HUMEDAD
1				
2				
3				

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 7: FICHA DE PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL

ESPECIE VEGETAL	PESO DE LAS HOJAS SECAS	ACEITE EXTRAIDO	% DE RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL
<i>Piper aduncum</i> "Matico"			
<i>Citrus jambhiri</i> Lush "Limón Risso"			

ANEXO N° 8: FICHA DE RECOLECCIÓN DE LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD DE LOS ACEITES ESENCIALES

SOLVENTE	Aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> “Matico”	Aceite esencial de <i>Citrus jambhiri Lush</i> “Limón Risso”
Agua destilada		
Tween 80		
Metanol		
Etanol al 70%		
Etanol al 96%		
Acetona		
Cloroformo		
Éter etílico		
Bencina		
Hexano		

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda:

- ⇒ Totalmente soluble: +++
- ⇒ Soluble: ++
- ⇒ Poco soluble: +
- ⇒ Insoluble: -

ANEXO N° 9: FICHA DE RECOLECCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS y FISICOQUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	RESULTADOS	
	Aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> "Matico"	Aceite esencial de <i>Citrus jambhiri Lush</i> "Limón Risso"
COLOR		
SABOR		
OLOR		
ASPECTO		
CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS	Aceite esencial de <i>Piper aduncum</i> "Matico"	Aceite esencial de <i>Citrus jambhiri Lush</i> "Limón Risso"
pH		
DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD		
ÍNDICE DE REFRACCIÓN		
ROTACIÓN ÓPTICA		
ÍNDICE DE ACIDEZ		

ANEXO N° 10: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DEL CONTROL DE CALIDAD DEL GEL DENTAL ELABORADO

PARÁMETROS		Formulación al 1%	Formulación al 2%	Formulación al 3%
ORGANOLÉPTICOS	Color			
	Olor			
	Sabor			
	Consistencia			
FISICOQUÍMICOS	Comprobación de la homogeneidad			
	Transparencia			
	Determinación de la Untabilidad			
	Medición del pH			
	Medición de la viscosidad			
	Prueba de adherencia			
	Prueba de estabilidad acelerada			
	Prueba de estabilidad			
MICROBIOLÓGICO	Prueba de calentamiento - refrigeración			
	Pseudomona Aeruginosa			
	Staphylococcus aureus			
	Coliformes fecales (E. coli)			
	Mesófilos Aerobios			
	Hongos filamentosos y levaduras			

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 11: FICHA DE RECOLECCIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN DEL GEL DENTAL ELABORADO

N°	GEL DENTAL	CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL (mg/mL)	DIÁMETRO DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm) CEPA ATCC			
			I (mm)	II (mm)	III (mm)	PROMEDIO (mm)
1	Gel dental base					
2	Con aceite esencial	1%				
3	de <i>Piper aduncum</i>	2%				
4	“Matico” y <i>Citrus jambhiri</i> Lush “Limón Risso”	3%				
5	Control gel	Colgate				
6	Antibióticos	Clindamicina				
7		Ciprofloxacino				

Fuente: Elaboración propia

Observaciones:

.....

.....

.....

.....

.....

Responsable:

.....

.....

ANEXO N° 12: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Piper aduncum* (MATICO) SEGÚN MACRODILUCIÓN. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

N° DE TUBO	CONCENTRACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO – ACEITE ESENCIAL DE <i>Piper aduncum</i> (MATICO)	GRADO DE TURBIDEZ	CLASIFICACIÓN			
			INHIBICIÓN BUENA ACTIVIDAD	MODERADA ACTIVIDAD	POCO ACTIVO	INACTIVO
1	100%					
2	50%					
3	25%					
4	12.5%					
5	6.25%					
6	3.13%					
7	1.56%					

Fuente: Elaboración propia

Observaciones:

.....

Responsable:

ANEXO N° 13: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus jambhiri Lush* (LIMÓN RISSO) SEGÚN MACRODILUCIÓN. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

N° DE TUBO	CONCENTRACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO – ACEITE ESENCIAL DE <i>Citrus jambhiri Lush</i> (LIMÓN RISSO)	GRADO DE TURBIDEZ	CLASIFICACIÓN			
			INHIBICIÓN BUENA ACTIVIDAD	MODERADA ACTIVIDAD	POCO ACTIVO	INACTIVO
1	100%					
2	50%					
3	25%					
4	12.5%					
5	6.25%					
6	3.13%					
7	1.56%					

Fuente: Elaboración propia

Observaciones:

.....

Responsable:

ANEXO N° 14: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL GEL DENTAL ELABORADO SEGÚN MACRODILUCIÓN. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

N° DE TUBO	CONCENTRACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO – GEL DENTAL ELABORADO	GRADO DE TURBIDEZ	CLASIFICACIÓN			
			INHIBICIÓN BUENA ACTIVIDAD	MODERADA ACTIVIDAD	POCO ACTIVO	INACTIVO
1	100%					
2	50%					
3	25%					
4	12.5%					
5	6.25%					
6	3.13%					
7	1.56%					

Fuente: Elaboración propia

Observaciones:

.....

Responsable:

ARCHIVO FOTOGRÁFICO



FOTOGRAFÍA N°1: Distrito de Yanatile, Provincia de Calca, Departamento de Cusco, a 1,143.00 msnm.



FOTOGRAFÍA N°2: Predio Huertahuayco en el Distrito de Yanatile, Provincia de Calca, Departamento de Cusco.



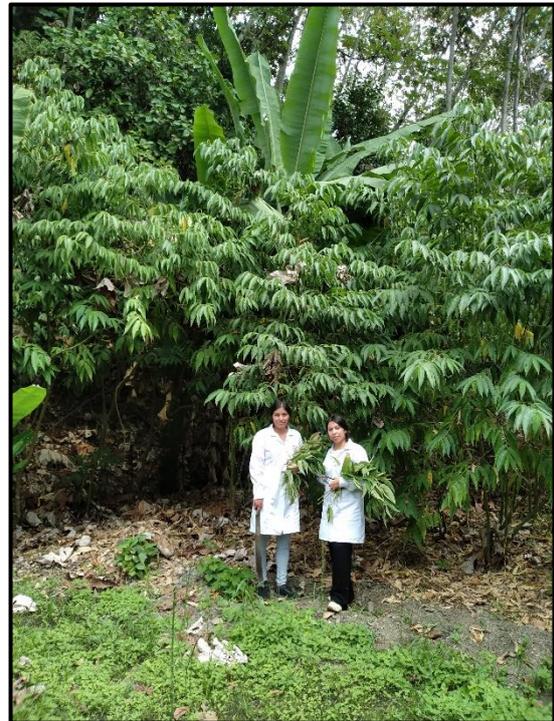
FOTOGRAFÍA N°3: Recolección de la especie vegetal *Piper aduncum* (Matico).



FOTOGRAFÍA N°4: Recolección de la especie vegetal *Piper aduncum* (Matico).



FOTOGRAFÍA N°5: Recolección de la especie vegetal *Piper aduncum* (Matico).



FOTOGRAFÍA N°6: Recolección de la especie vegetal *Piper aduncum* (Matico).



FOTOGRAFÍA N°7: Recolección de la especie vegetal *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)



FOTOGRAFÍA N°8: Recolección de la especie vegetal *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)



FOTOGRAFÍA N°9: Recolección de la especie vegetal *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)



FOTOGRAFÍA N°10: Recolección de la especie vegetal *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso)



FOTOGRAFÍA N°11

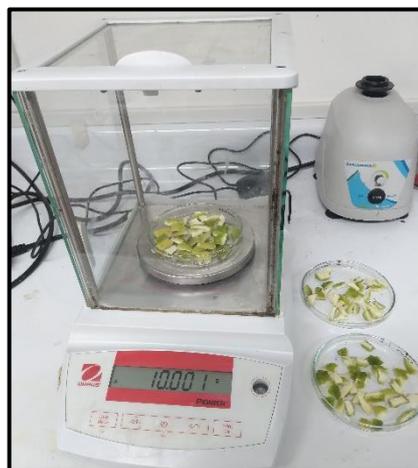


FOTOGRAFÍA N°12

FOTOGRAFÍA N°11 Y 12: Preparación de muestras de las especies vegetales *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón Riso), para su determinación taxonómica en el Instituto Científico Michael Owen Dillon - Arequipa.

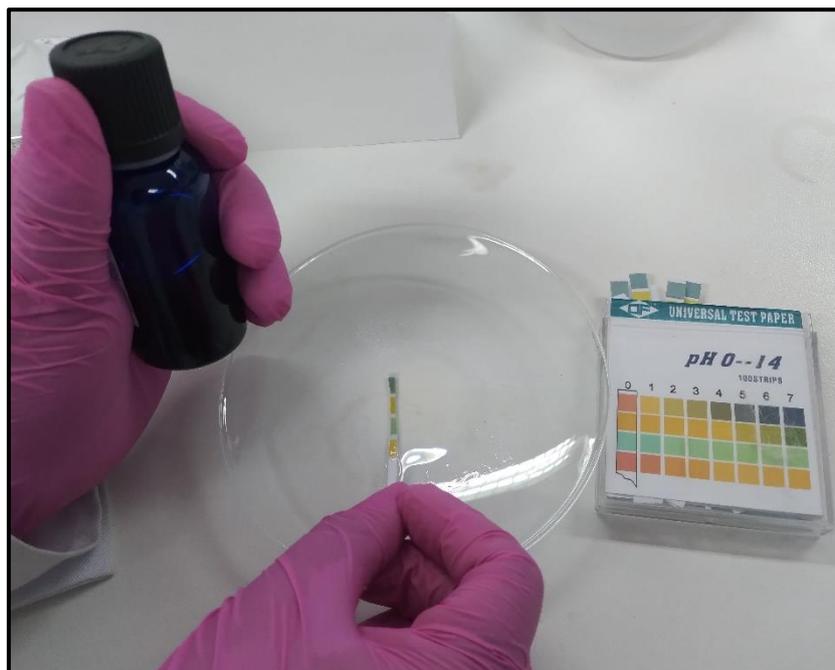


FOTOGRAFÍA N° 13

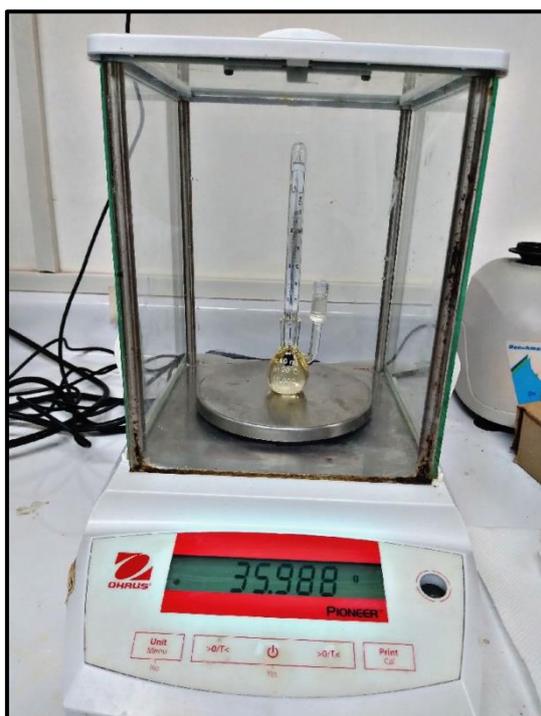


FOTOGRAFÍA N°14

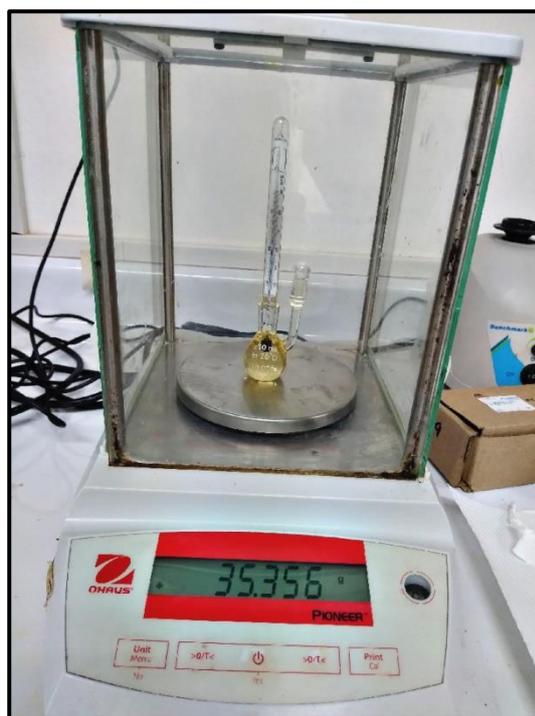
FOTOGRAFÍA N°13 Y 14: Pesado de muestras de las especies vegetales *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón Riso), para la determinación del porcentaje de humedad.



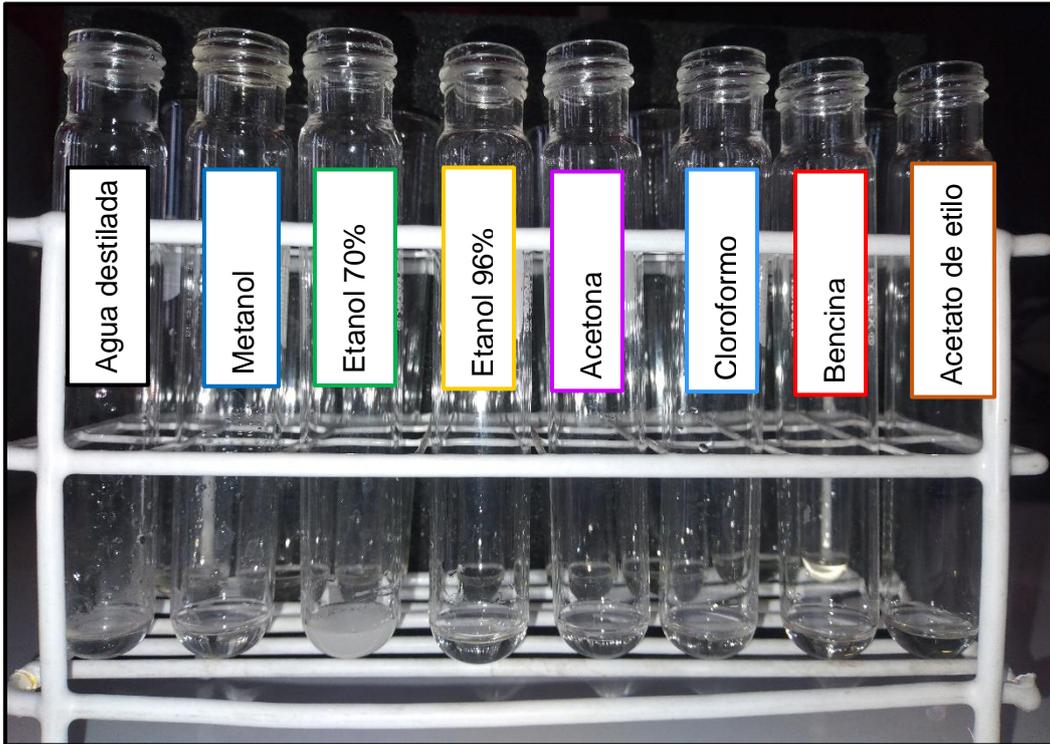
FOTOGRAFÍA N°15: Determinación del pH de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso).



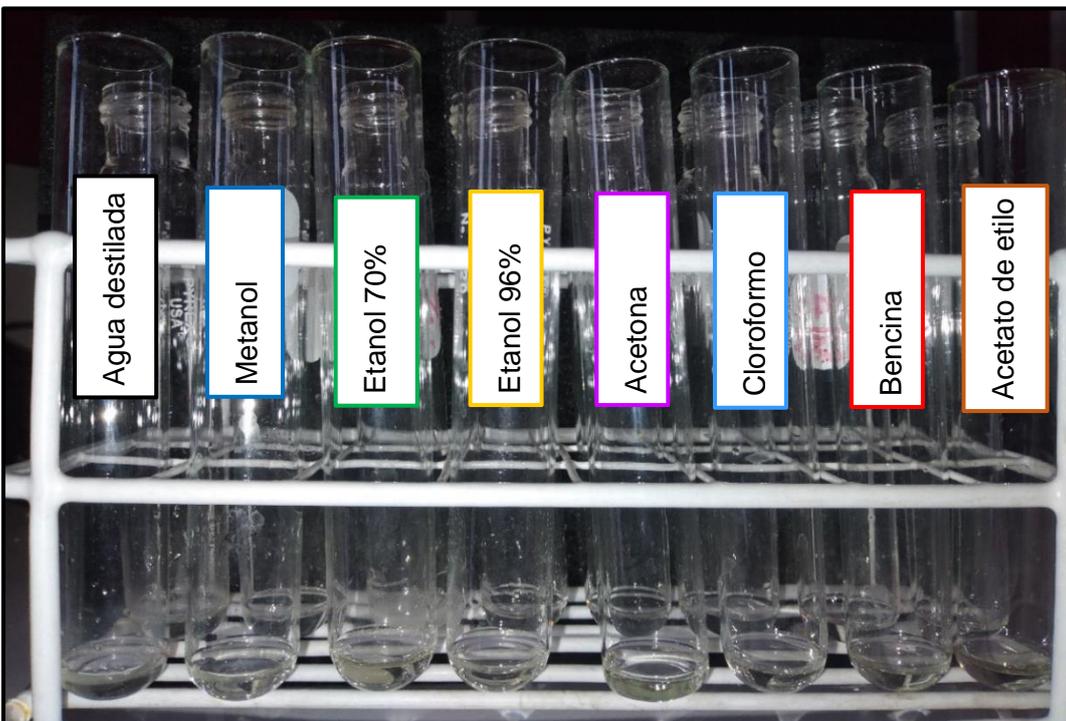
FOTOGRAFÍA N°16: Determinación de la densidad del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico).



FOTOGRAFÍA N°17: Determinación de la densidad del aceite esencial de *Citrus jambhiri Lush* (Limón Risso).



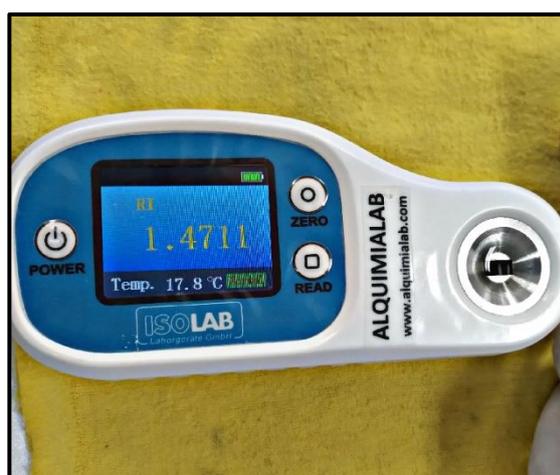
FOTOGRAFÍA N°18: Prueba de solubilidad del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico).



FOTOGRAFÍA N°19: Prueba de solubilidad del aceite esencial de *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso)



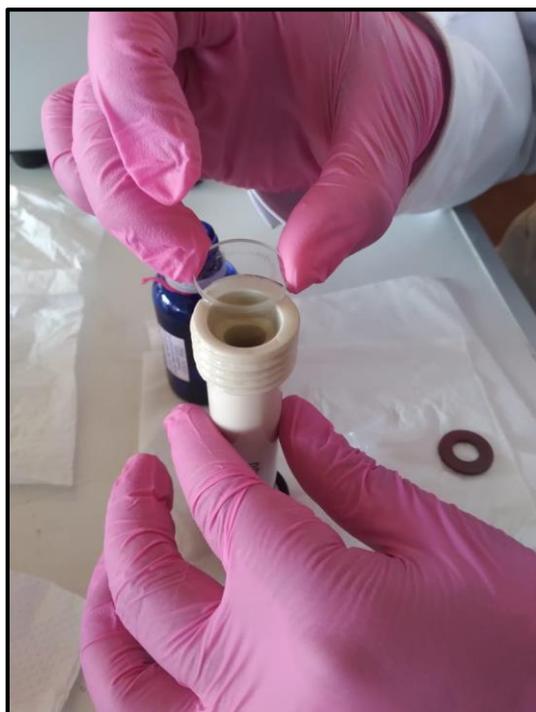
FOTOGRAFÍA N°20: Determinación del índice de refracción del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico).



FOTOGRAFÍA N°21: Determinación del índice de refracción del aceite esencial de *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso).



FOTOGRAFÍA N°22: Preparación de la muestra de aceites esenciales para la determinación de la rotación óptica.



FOTOGRAFÍA N°23: Preparación de la muestra de aceites esenciales para la determinación de la rotación óptica.



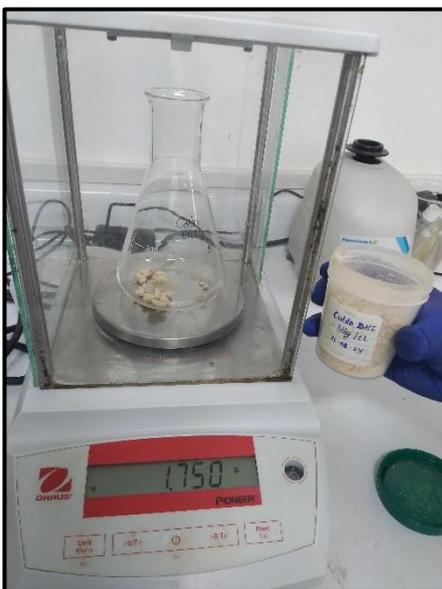
FOTOGRAFÍA N°24: Determinación de la rotación óptica del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso).



FOTOGRAFÍA N°25: Determinación del índice de acidez de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri* Lush (Limón risso).



FOTOGRAFÍA N°26: Determinación del índice de acidez de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) y *Citrus jambhiri* Lush (Limón risso).



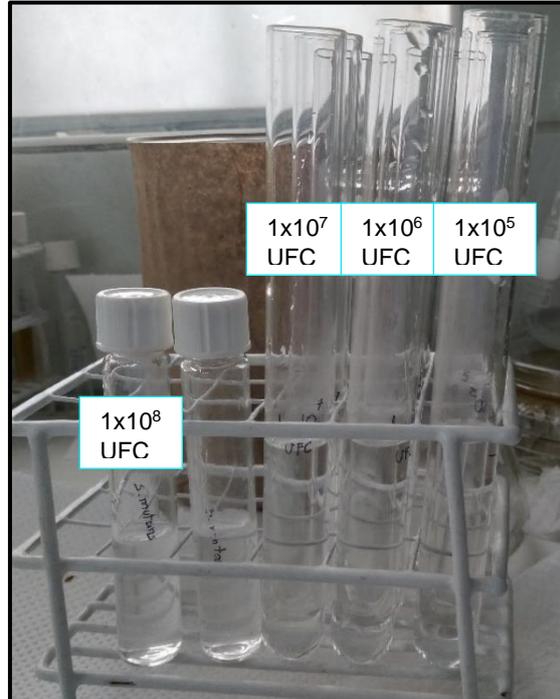
FOTOGRAFÍA N°27: Preparación de caldo BHI para realizar la macrodilución de los aceites esenciales.



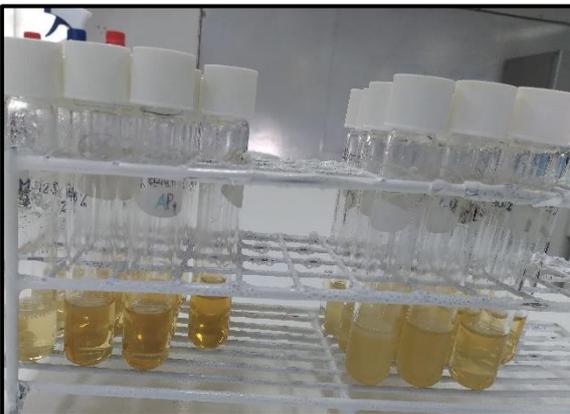
FOTOGRAFÍA N°28: Incorporación de 1mL de caldo BHI a cada tubo de ensayo, para luego ser esterilizado en autoclave.



FOTOGRAFÍA N°29: Incorporación de los aceites esenciales (a partir de una solución madre) a los tubos de ensayo que contienen caldo BHI.



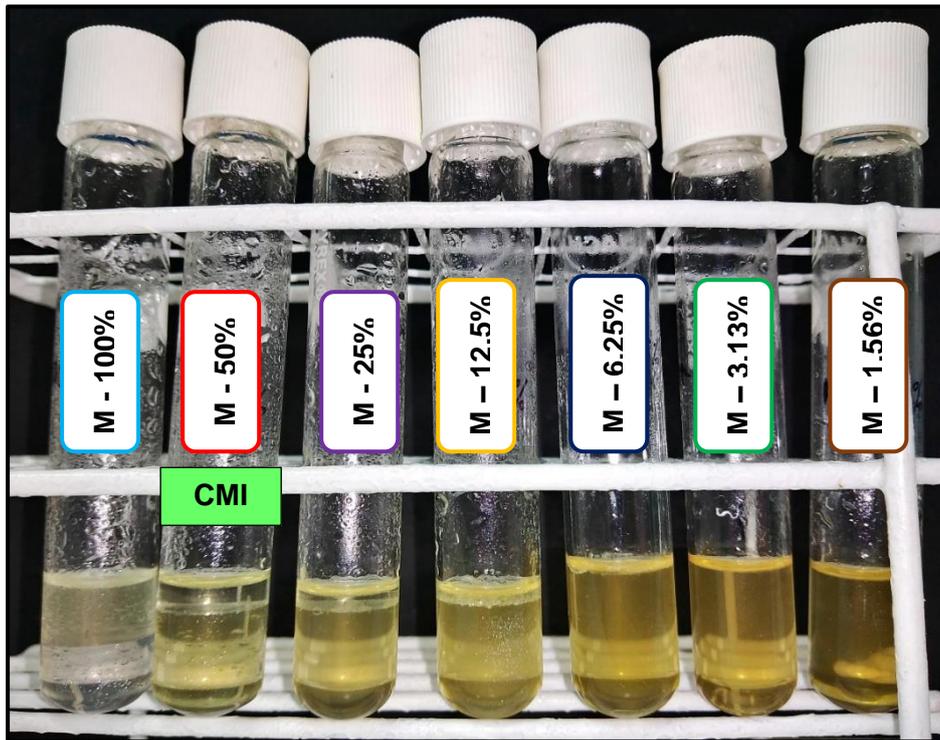
FOTOGRAFÍA N°30: Estandarización del inóculo de la escala de McFarland = 1×10^8 UFC a la escala de 1×10^5 UFC.



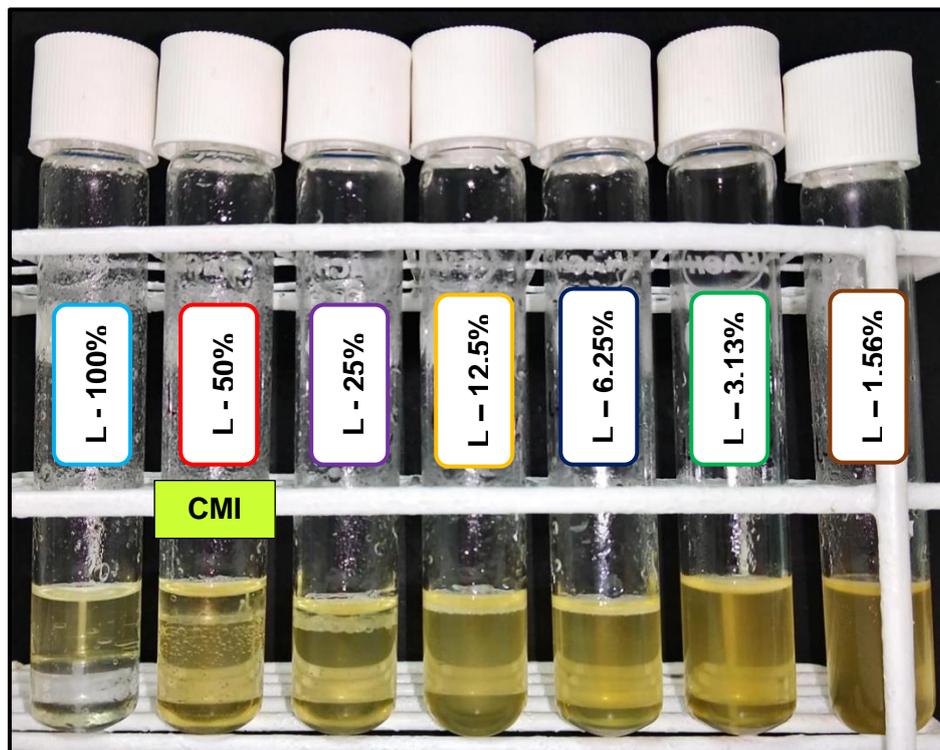
FOTOGRAFÍA N°31: Adición de 1mL de inóculo ajustado a cada tubo que contienen los aceites esenciales.



FOTOGRAFÍA N°32: Incubado de los tubos a una temperatura de 37°C por 24 horas.

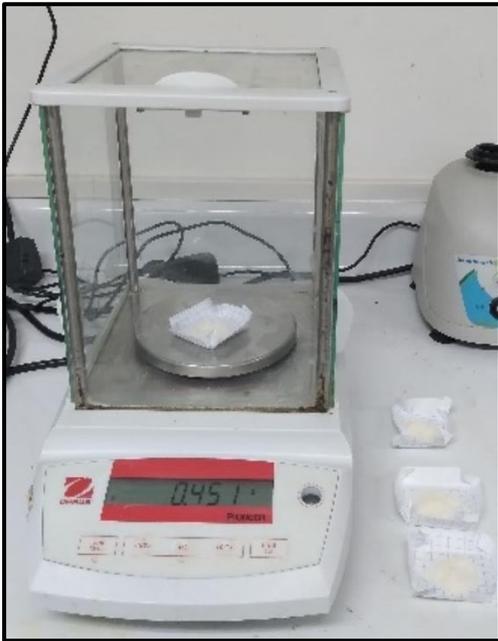


FOTOGRAFÍA N°33: Tubos después de la incubación para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de *Piper aduncum* (Matico).

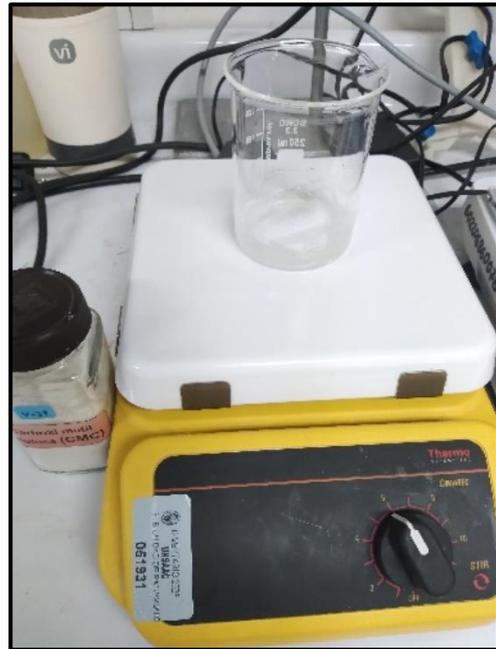


FOTOGRAFÍA N°34: Tubos después de la incubación para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del aceite esencial de *Citrus jambhiri* Lush (Limón Risso).

FORMULACIÓN DEL GEL DENTAL



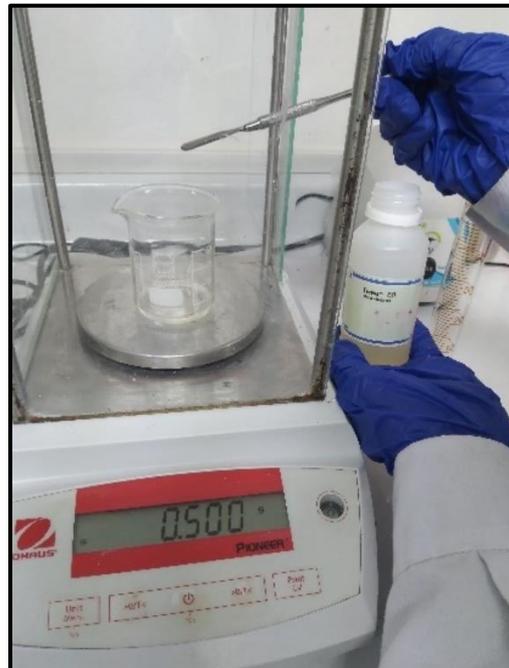
FOTOGRAFÍA N°35: Pesado de la carboximetilcelulosa.



FOTOGRAFÍA N°36: Combinación de CMC y agua destilada en el agitador magnético.



FOTOGRAFÍA N°37: Incorporación de los aceites esenciales en glicerina.



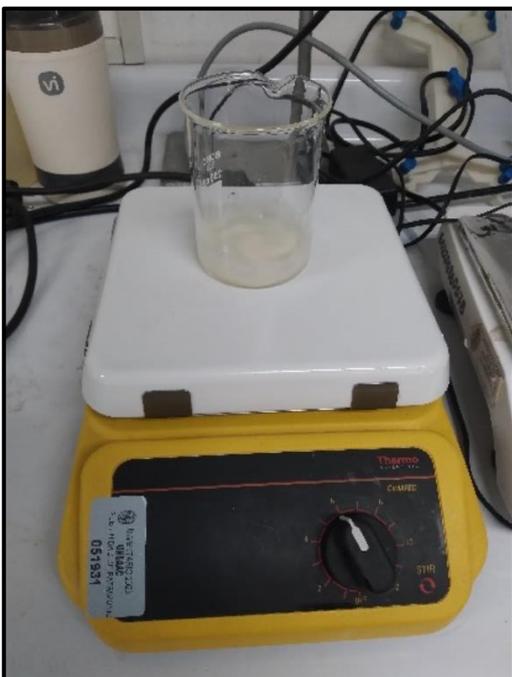
FOTOGRAFÍA N°38: Adición de Tween 80.



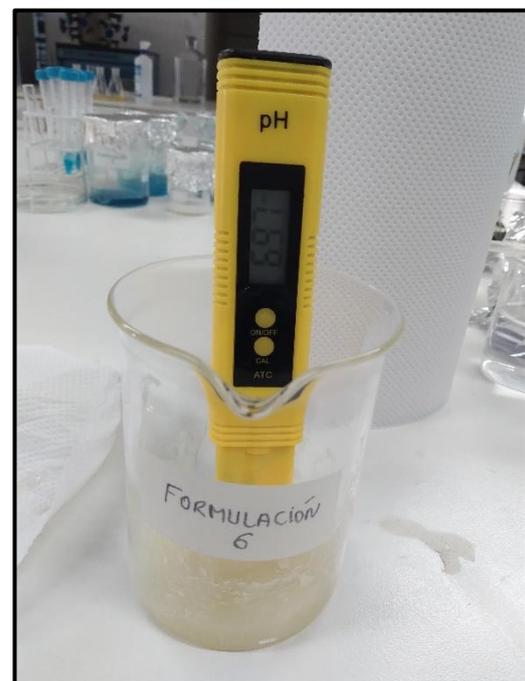
FOTOGRAFÍA N°39: Incorporación de sorbitol y Stevia.



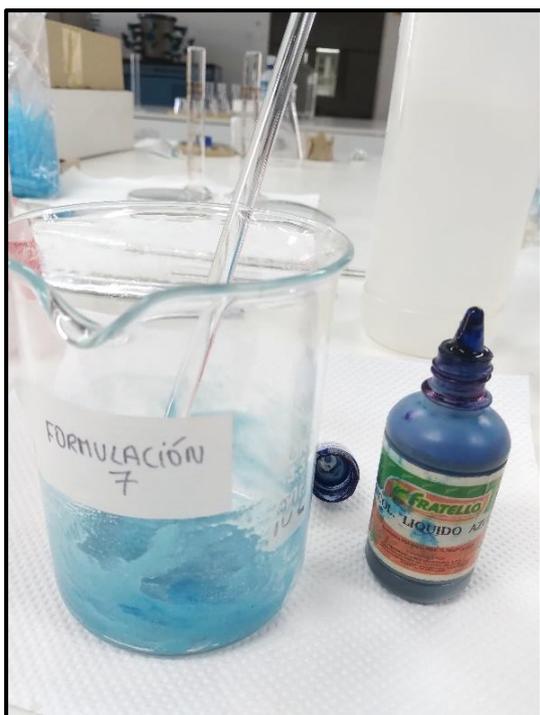
FOTOGRAFÍA N°40: Mezcla de los componentes antes mencionados a la base gel.



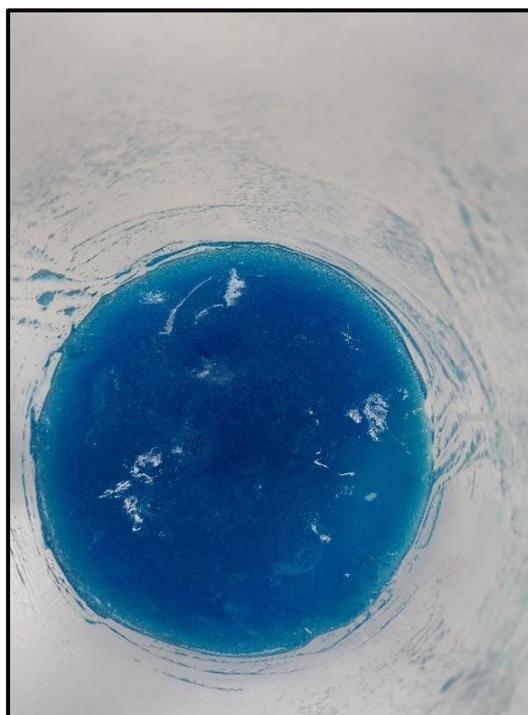
FOTOGRAFÍA N°41: Homogenización del gel dental en el agitador magnético.



FOTOGRAFÍA N°42: Medición del pH del gel dental elaborado.



FOTOGRAFÍA N°43: Adición de colorante azul al gel dental.



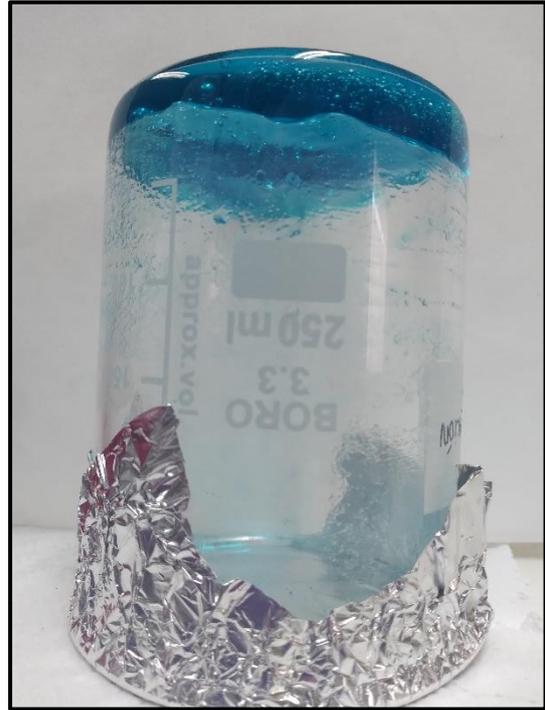
FOTOGRAFÍA N°44: Color del gel dental.



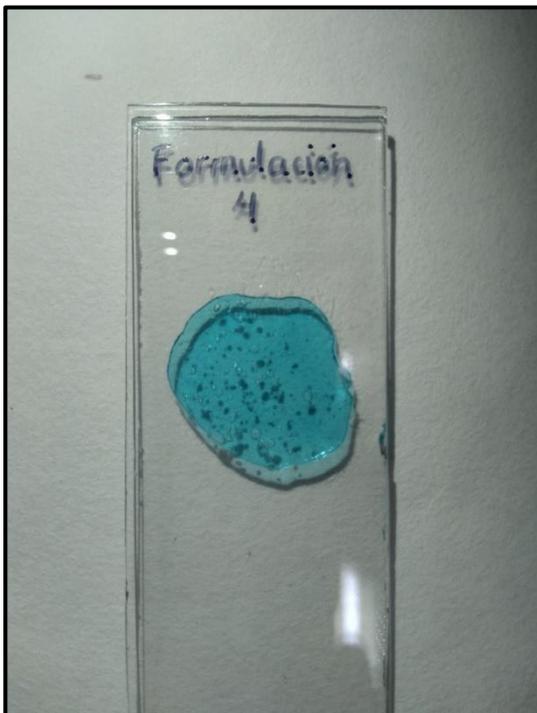
FOTOGRAFÍA N°45: Formulaciones elaboradas del gel dental a diferentes concentraciones.



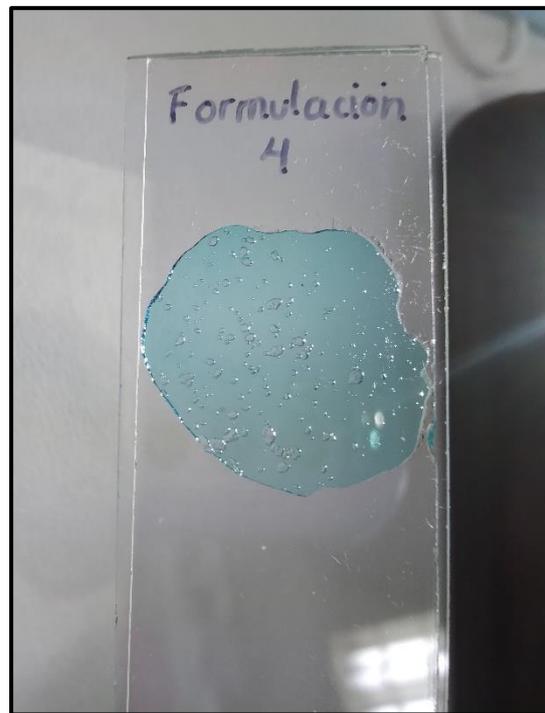
FOTOGRAFÍA N°46: Control de Calidad organoléptico: color, olor, sabor y consistencia.



FOTOGRAFÍA N°47: Evaluación de la consistencia del gel dental elaborado.



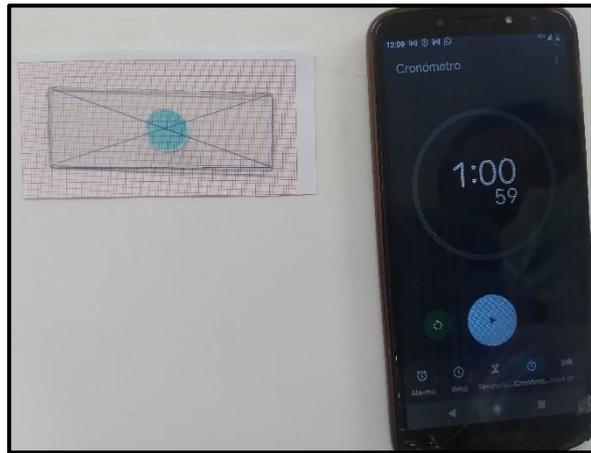
FOTOGRAFÍA N°48: Evaluación de la homogeneidad del gel dental elaborado.



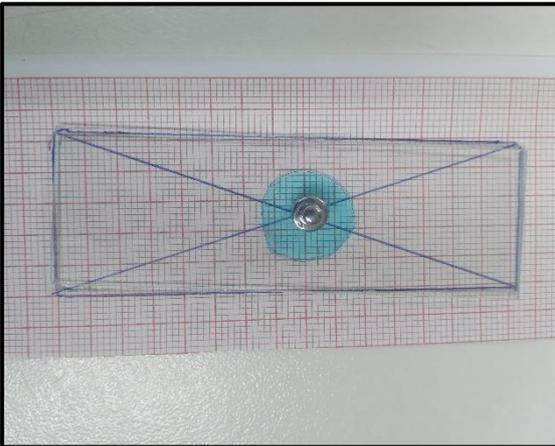
FOTOGRAFÍA N°49: Evaluación de la transparencia del gel dental elaborado.



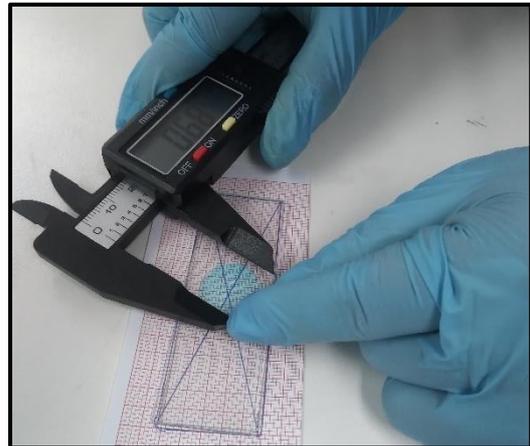
FOTOGRAFÍA N°50: Determinación de la extensibilidad del gel dental. Peso de la muestra.



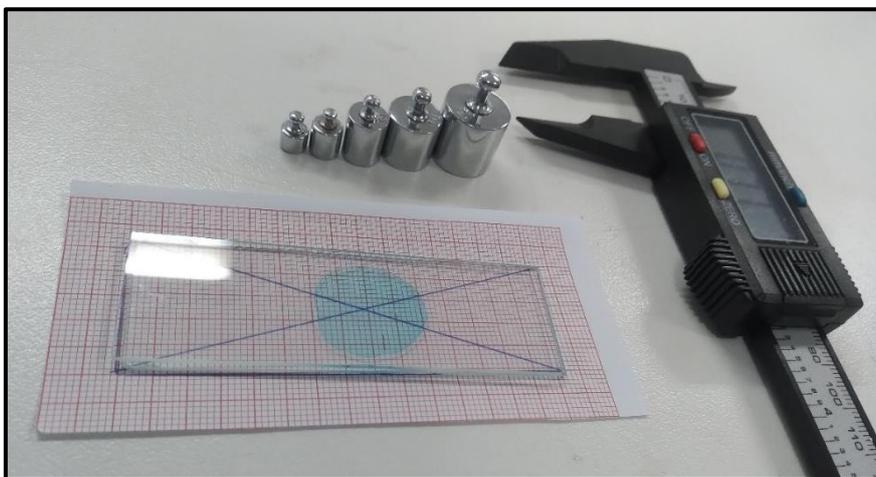
FOTOGRAFÍA N°51: Colocación del portaobjeto sobre el otro que contiene la muestra del gel dental.



FOTOGRAFÍA N°52: Colocación de pesas de 1g, 2g, 5g, 10g y 20g.



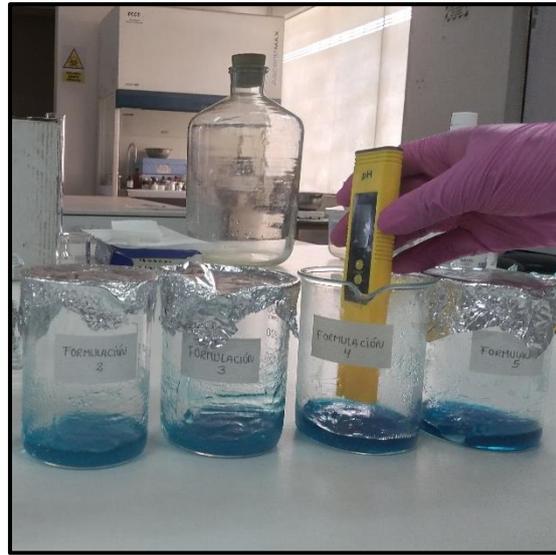
FOTOGRAFÍA N°53: Medición del radio del círculo generado.



FOTOGRAFÍA N°54: Extensibilidad del gel dental elaborado.



FOTOGRAFÍA N°55: Medición del pH del gel dental elaborado, haciendo uso del pH-metro.



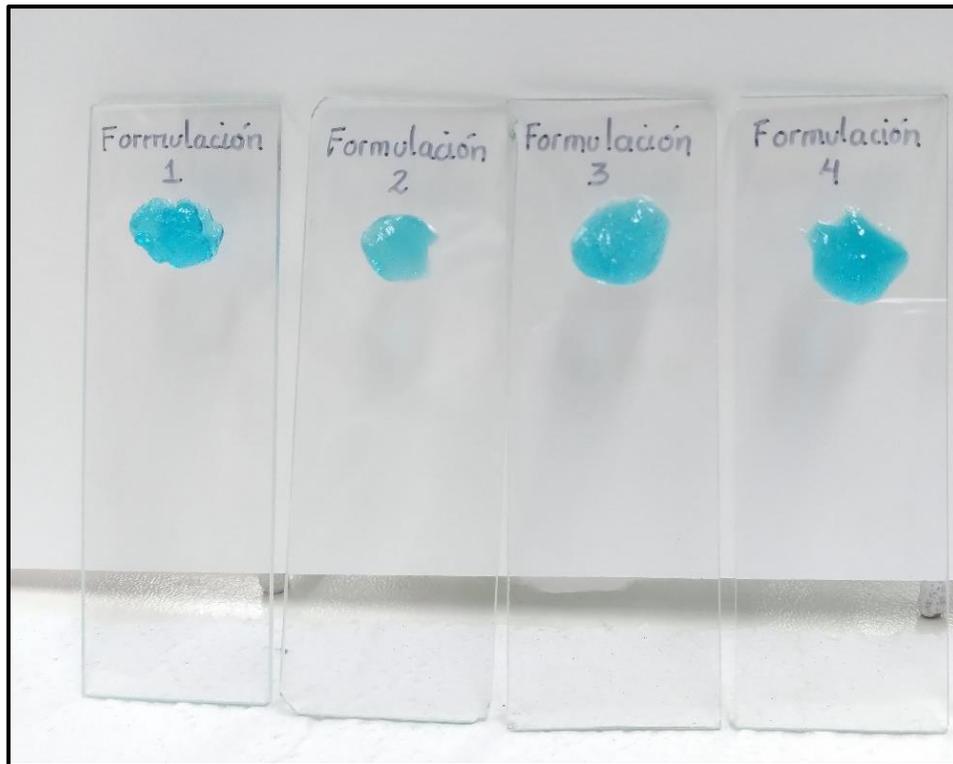
FOTOGRAFÍA N°56: Medición del pH del gel dental elaborado.



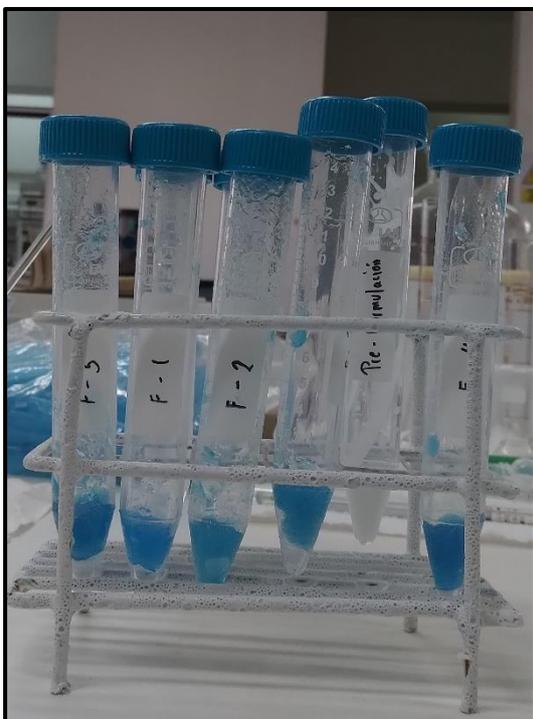
FOTOGRAFÍA N°57: Medición de la viscosidad del gel dental elaborado.



FOTOGRAFÍA N°58: Medición de la viscosidad del gel dental elaborado.



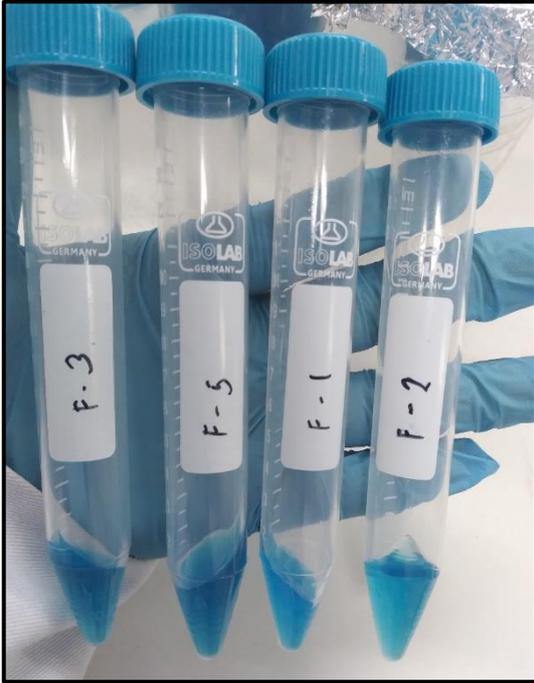
FOTOGRAFÍA N°59: Determinación de la prueba de adherencia del gel dental de limpieza elaborado.



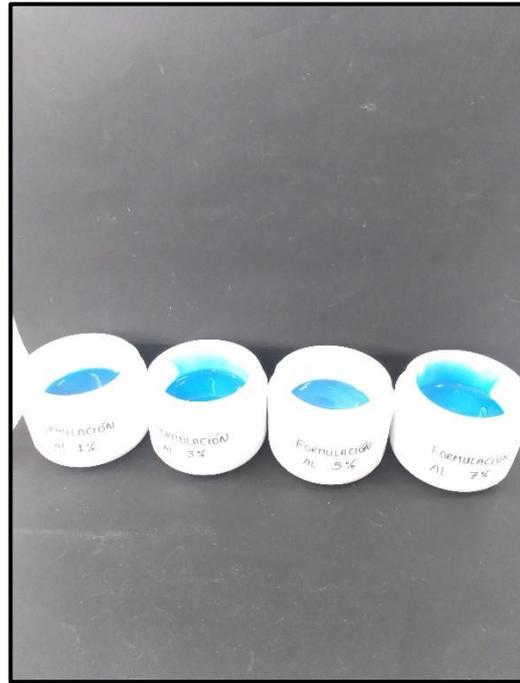
FOTOGRAFÍA N°60: Preparación de las muestras del gel dental para la prueba de estabilidad acelerada



FOTOGRAFÍA N°61: Evaluación de la estabilidad acelerada mediante el uso de la centrifuga a 3800 rpm por 30 minutos.



FOTOGRAFÍA N°62: Resultados de las muestras del gel dental tras pasar por la centrifuga.



FOTOGRAFÍA N°63: Prueba de estabilidad, 1 mes.

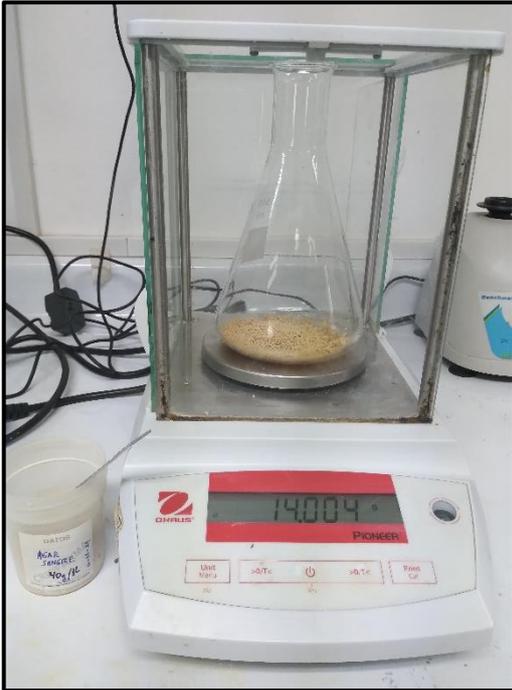


FOTOGRAFÍA N°64: Prueba de calentamiento, se llevó las muestras a la estufa a 40°C por 24 horas.



FOTOGRAFÍA N°65: Prueba de refrigeramiento, 4°C por 24 horas

PRUEBA DE KIRBY BAUER MODIFICADO



FOTOGRAFÍA N°66: Pesado de agar sangre necesaria.



FOTOGRAFÍA N°67: Adición de agua destilada para su disolución.



FOTOGRAFÍA N°68: Llevar a baño maría para su completa disolución.



FOTOGRAFÍA N°69: Esterilizar el medio de cultivo y los materiales en autoclave a 121°C por 15 minutos.



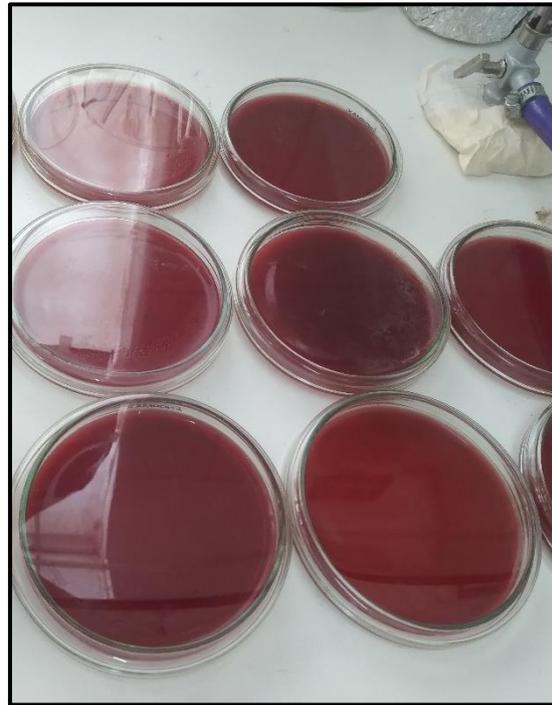
FOTOGRAFÍA N°70: Dejar enfriar a temperatura ambiente hasta 45-50°C.



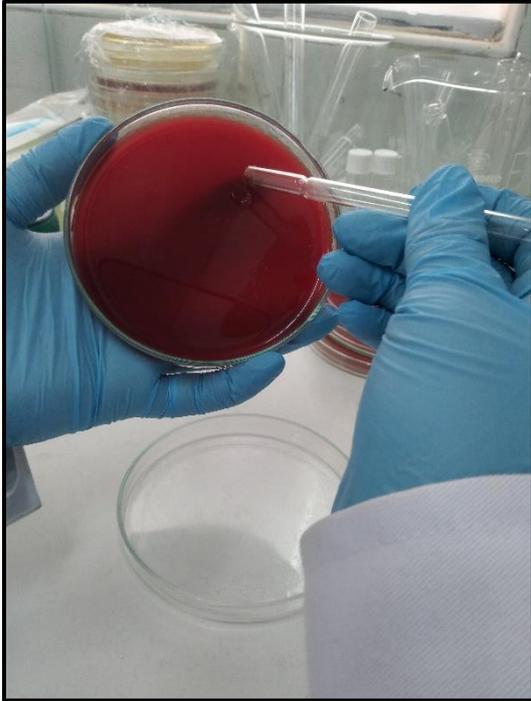
FOTOGRAFÍA N°71: Incorporación de sangre al agar preparado.



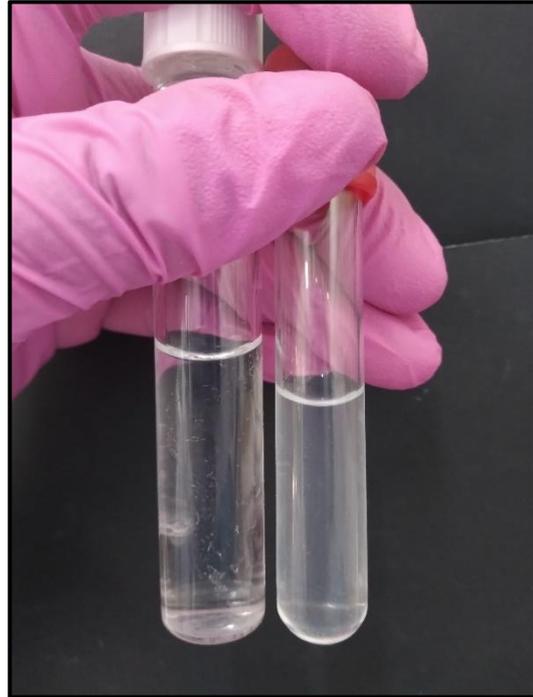
FOTOGRAFÍA N°72: Realizar el paqueo correspondiente.



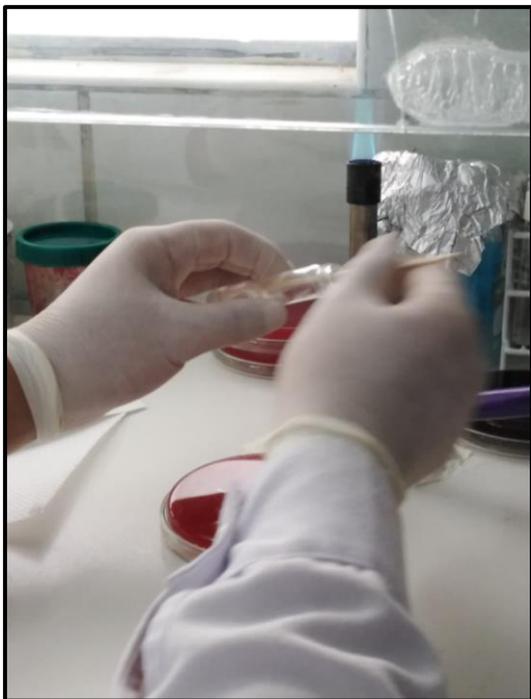
FOTOGRAFÍA N°73: Dejar que el agar solidifique



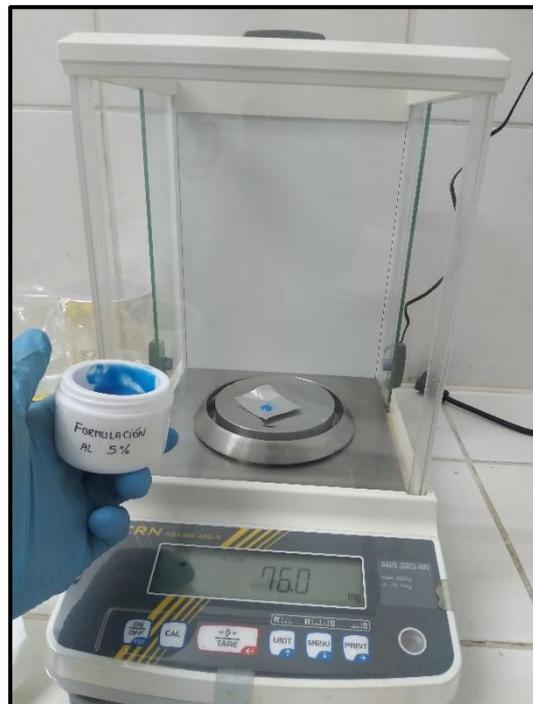
FOTOGRAFÍA N°74: Realización de los pozos en cada placa con agar



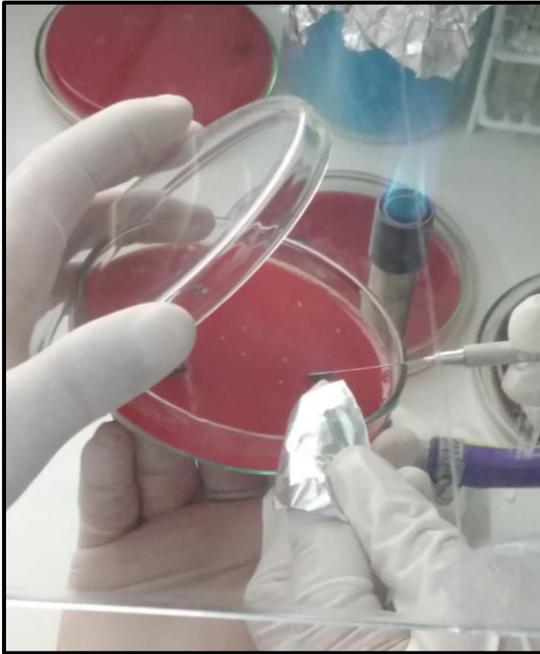
FOTOGRAFÍA N°75: En tubos con solución fisiológica, preparar el inóculo bacteriano llevando a una concentración de 0,5 de la escala de McFarland.



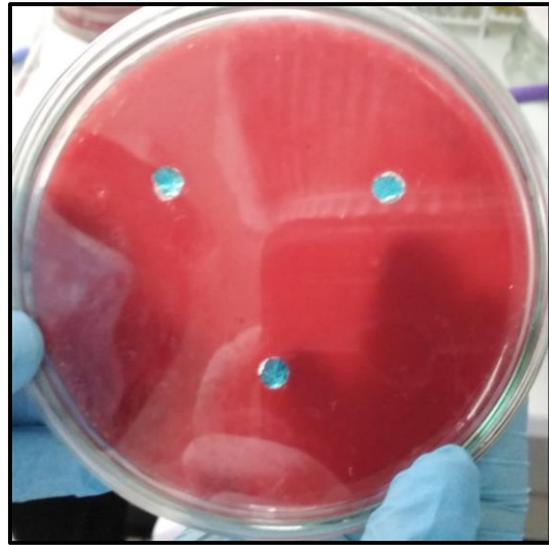
FOTOGRAFÍA N°76: Con ayuda de un isopo, sembrar el inóculo de *Streptococcus mutans* en cada placa.



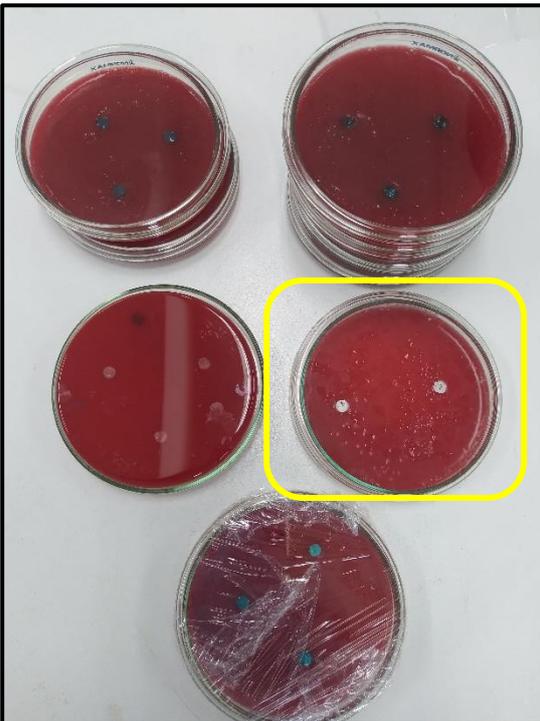
FOTOGRAFÍA N°77: Pesado del gel dental elaborado.



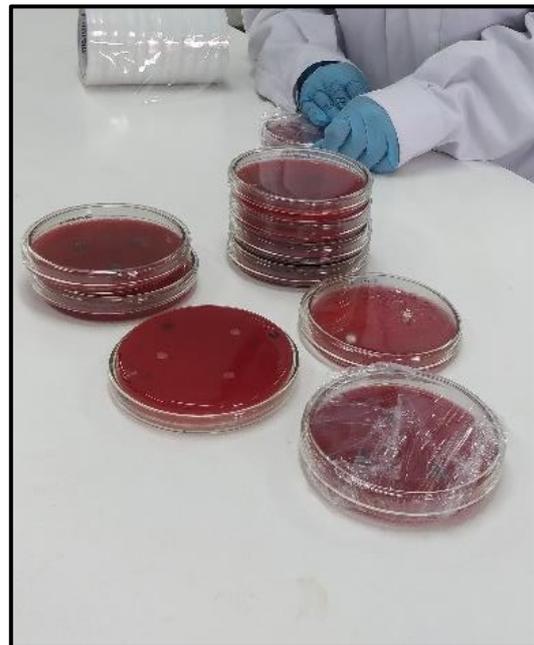
FOTOGRAFÍA N°78: Colocación del gel dental y gel control en los pozos realizados.



FOTOGRAFÍA N°79: Gel dental situado en las placas con agar sangre e inóculo bacteriano.



FOTOGRAFÍA N°80: Colocación de los discos de antibióticos: clindamicina y ciprofloxacino.



FOTOGRAFÍA N°81: Envolver cada placa con papel film.



FOTOGRAFÍA N°82: Con la ayuda de un recipiente y velas, llevar a un sistema de anaerobiosis.



FOTOGRAFÍA N°83: Cerrado del recipiente.

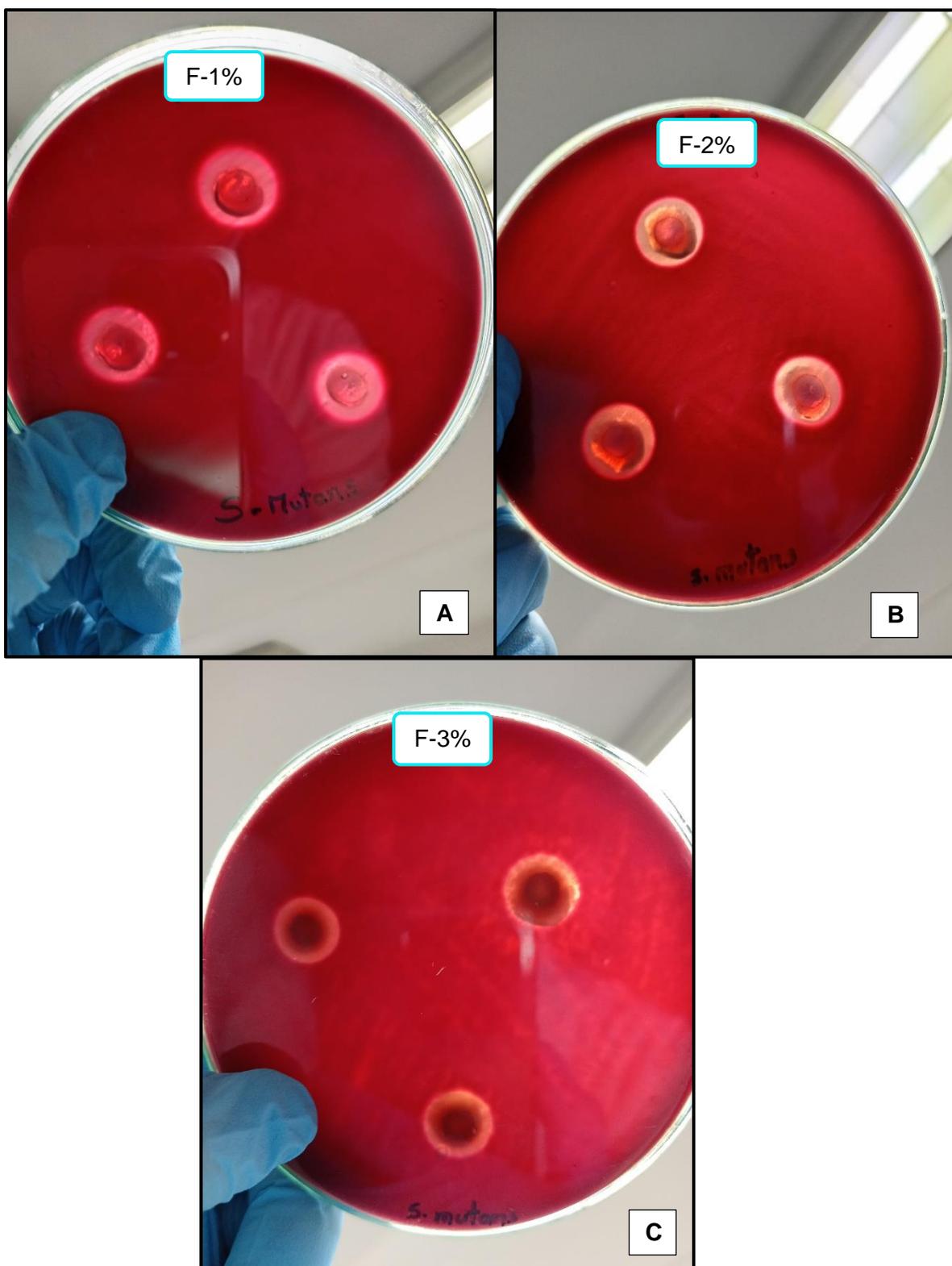


FOTOGRAFÍA N°84: Placas en anaerobiosis listas para llevar a incubación.

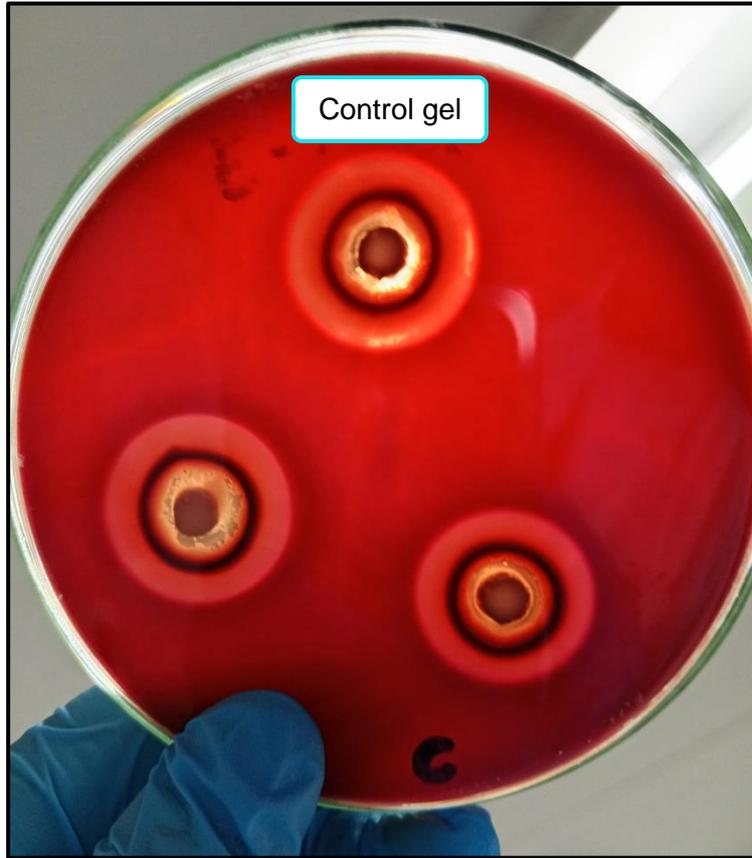


FOTOGRAFÍA N°85: Incubación de las placas a 37°C durante 24 horas.

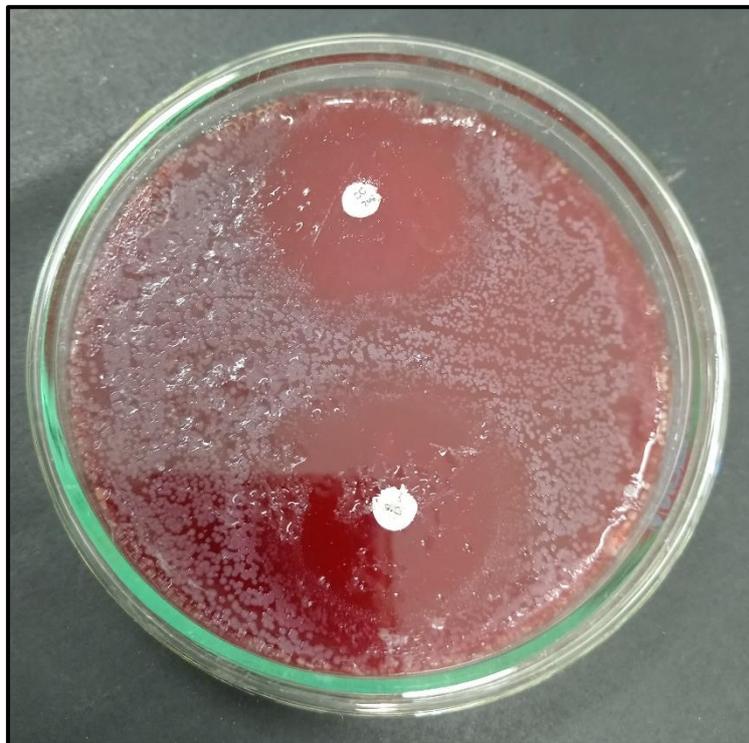
RESULTADOS DEL MÉTODO KIRBY BAUER MODIFICADO



FOTOGRAFÍA N°86: **A)** Halos de inhibición de la formulación al 1%, **B)** Halos de inhibición de la formulación al 2%, **C)** Halos de inhibición de la formulación al 3%.

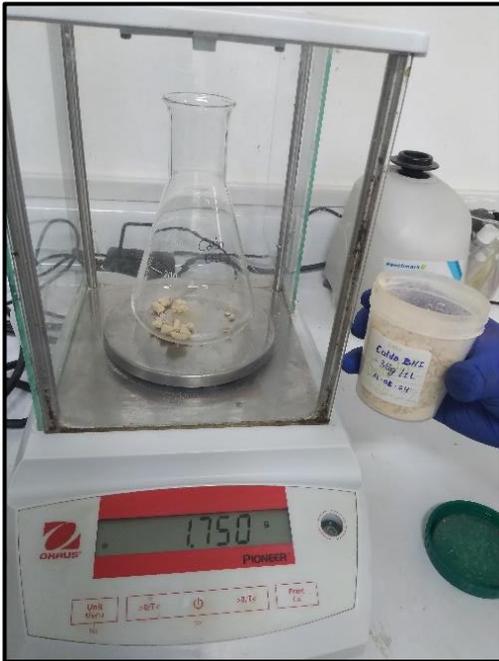


FOTOGRAFÍA N°87: Halos de inhibición del control gel (Colgate)



FOTOGRAFÍA N°88: Halos de inhibición de los antibióticos control: Clindamicina y ciprofloxacino.

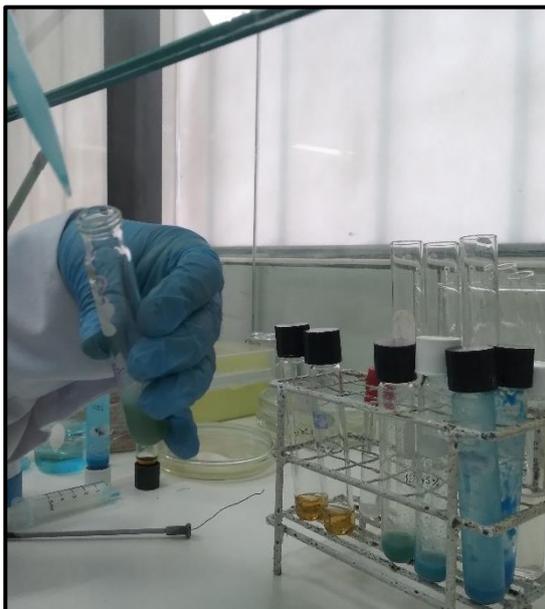
MACRODILUCIÓN DEL GEL DENTAL ELABORADO



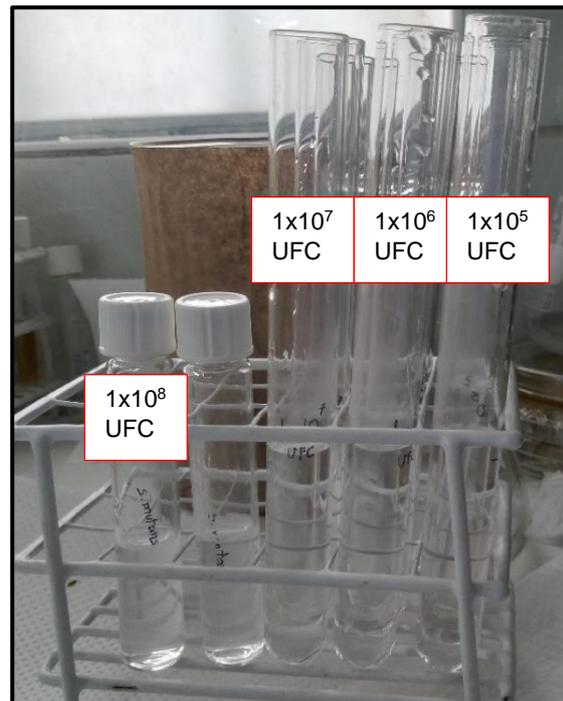
FOTOGRAFÍA N°89: Preparación de caldo BHI para la macrodilución



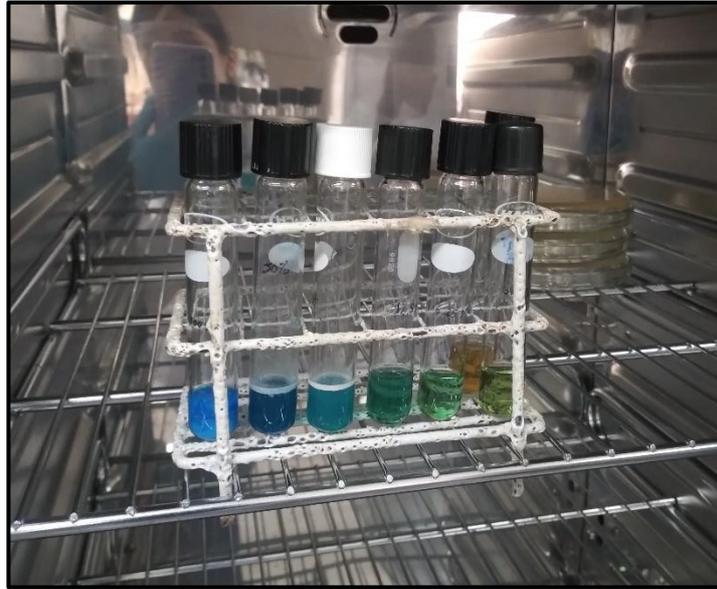
FOTOGRAFÍA N°90: Incorporación de 1mL de caldo BHI a cada tubo de ensayo, para luego ser esterilizado en autoclave.



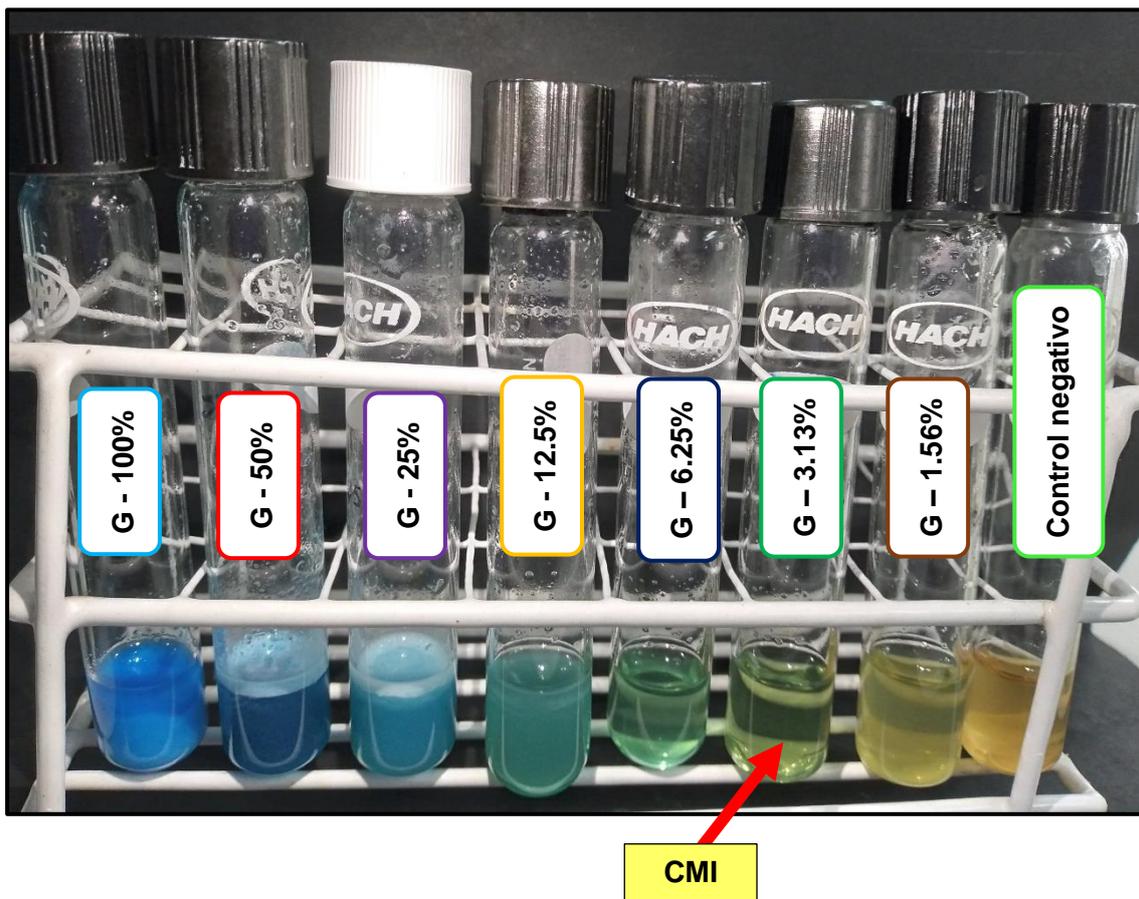
FOTOGRAFÍA N°91: Incorporación de 1mL gel dental a cada uno de los tubos con caldo BHI.



FOTOGRAFÍA N°92: Estandarización del inóculo de la escala de McFarland = 1×10^8 UFC a la escala de 1×10^5 UFC y adicionar 1mL a cada tubo de ensayo.

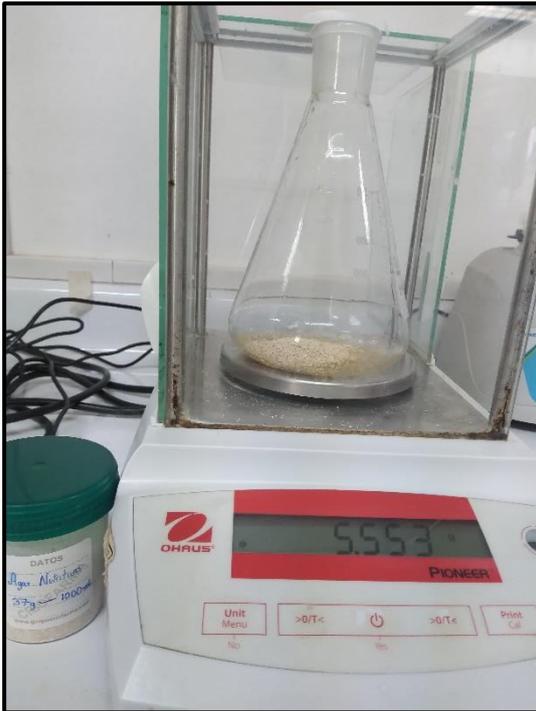


FOTOGRAFÍA N°93: Incubación de los tubos a una temperatura de 37°C durante 24 horas.



FOTOGRAFÍA N°94: Tubos después de la incubación para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del gel dental elaborado.

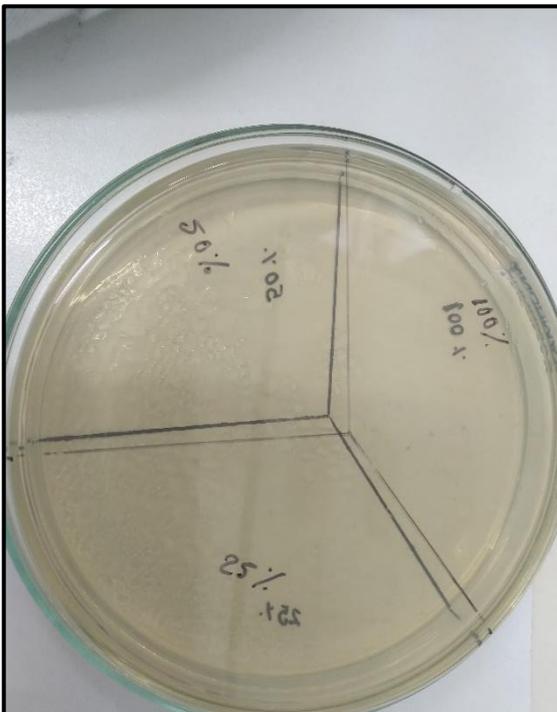
SEMBRADO DE LA MACRODILUCIÓN



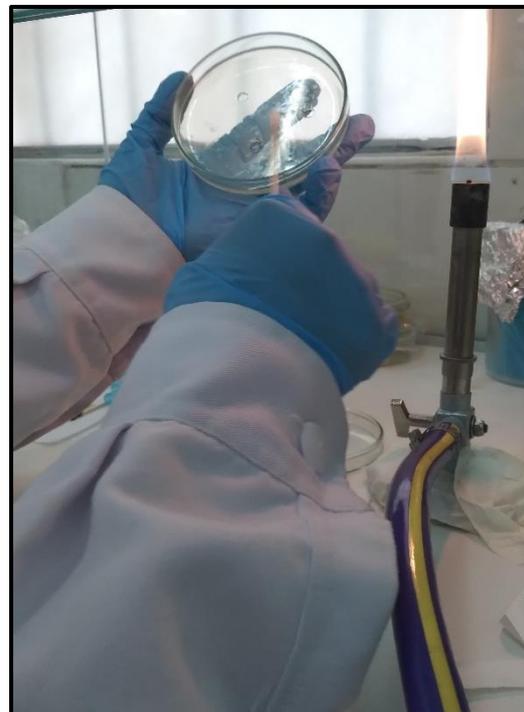
FOTOGRAFÍA N°95: Pesado del agar nutritivo.



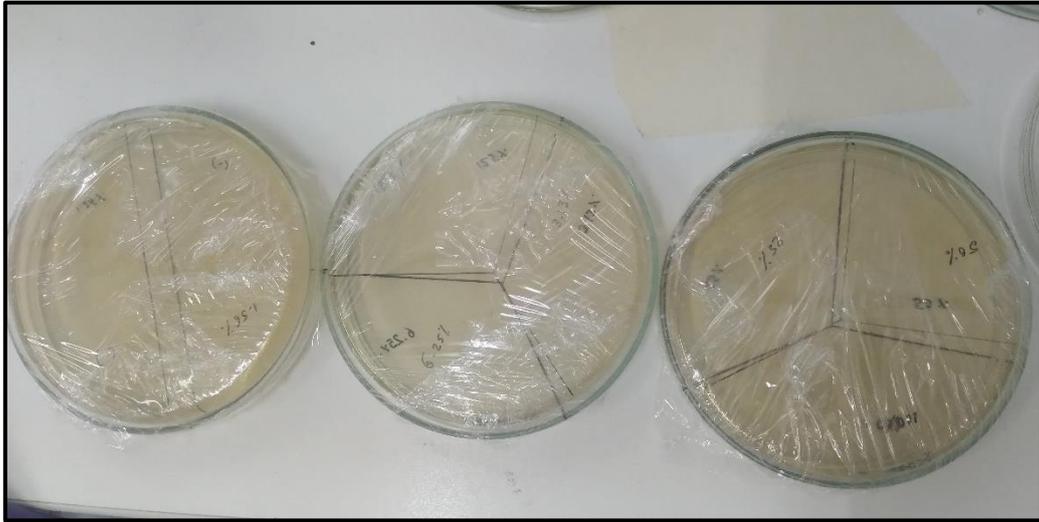
FOTOGRAFÍA N°96: Disolución del agar nutritivo en baño maría para luego ser esterilizado en autoclave.



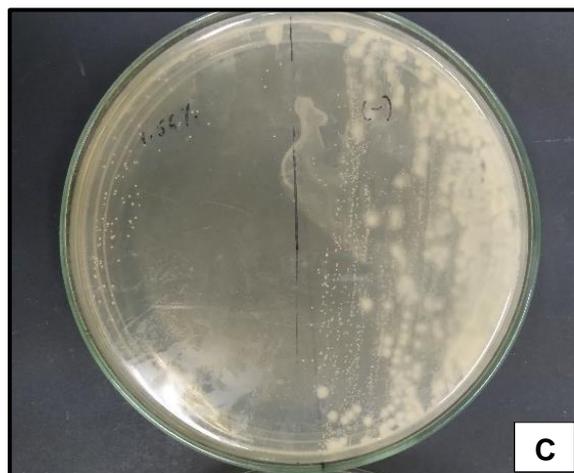
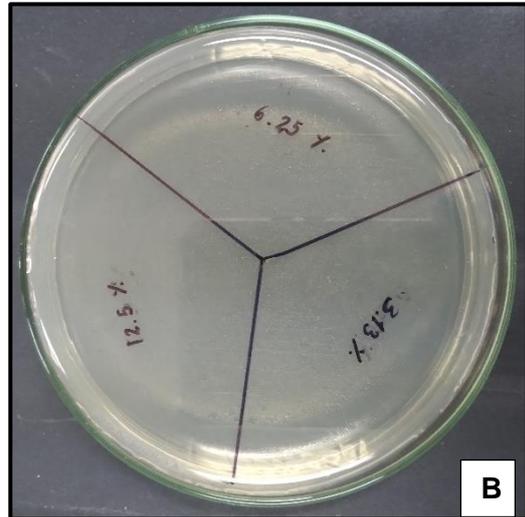
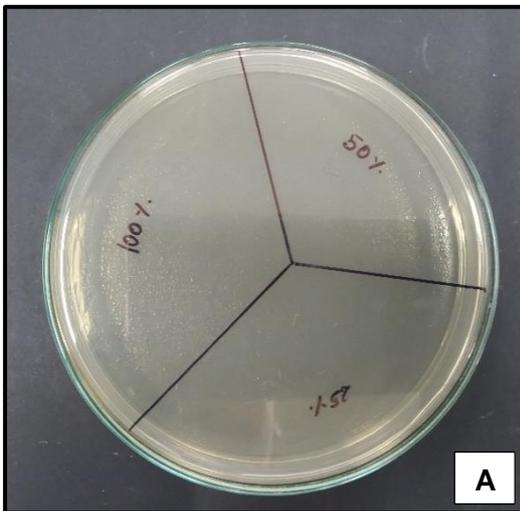
FOTOGRAFÍA N°97: Rotulado de las placas para cada macrodilución del gel dental.



FOTOGRAFÍA N°98: Sembrado de los tubos de macrodilución.

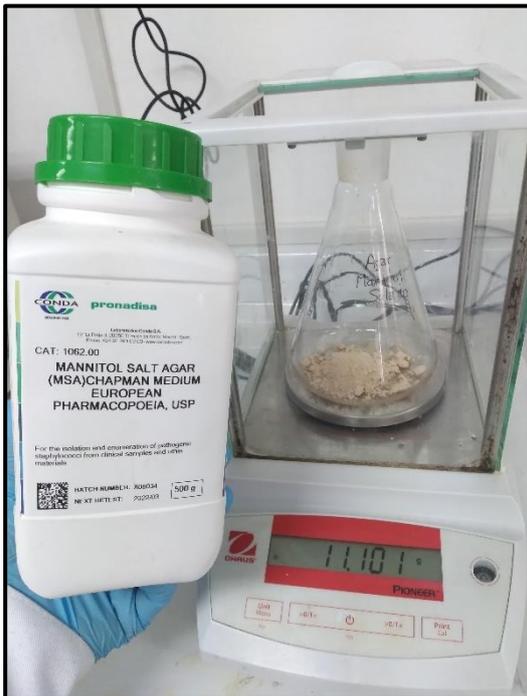


FOTOGRAFÍA N°99: Llevar a incubar a una temperatura de 37°C durante 24 horas y observar los resultados.



FOTOGRAFÍA N°100: Placas después de la incubación con cada tubo de macrodilución. **A)** Gel dental al 100%, 50%, 25%; **B)** Gel dental al 12.5%, 6.25%, 3.13%; **C)** Gel dental a 1.56% y Control negativo (se observa crecimiento de *S. mutans*).

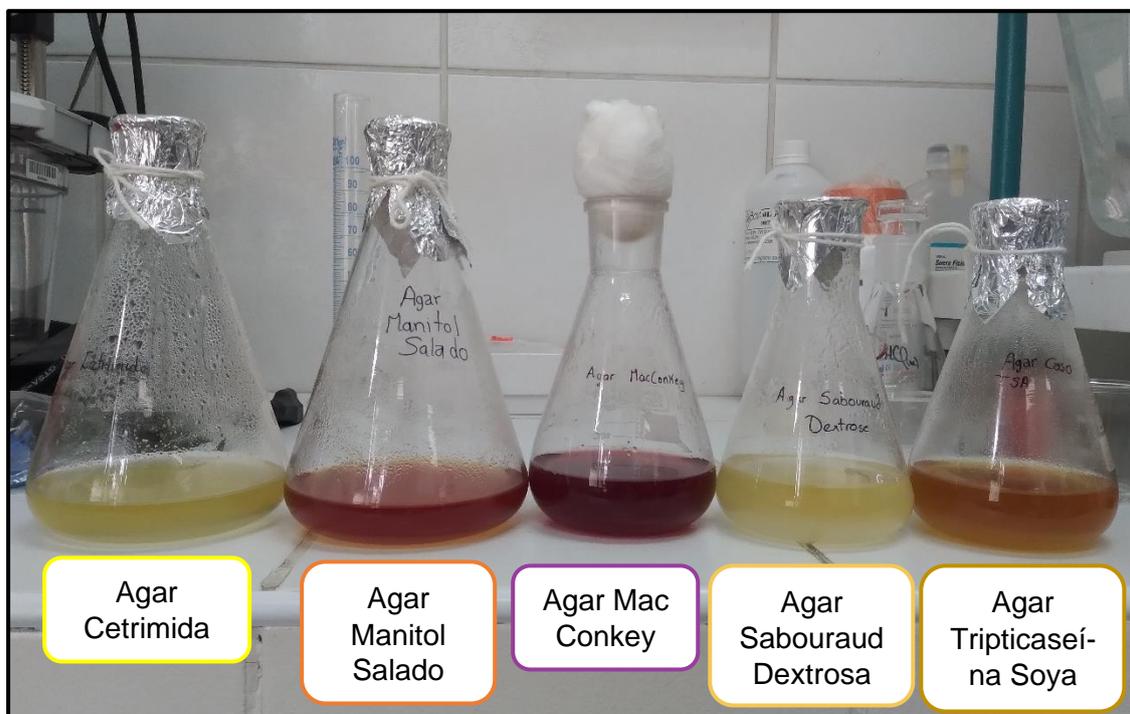
PRUEBA MICROBIOLÓGICA



FOTOGRAFÍA N°101: Pesado del agar nutritivo.



FOTOGRAFÍA N°102: Disolución del agar nutritivo en baño maría para luego ser esterilizado en autoclave.



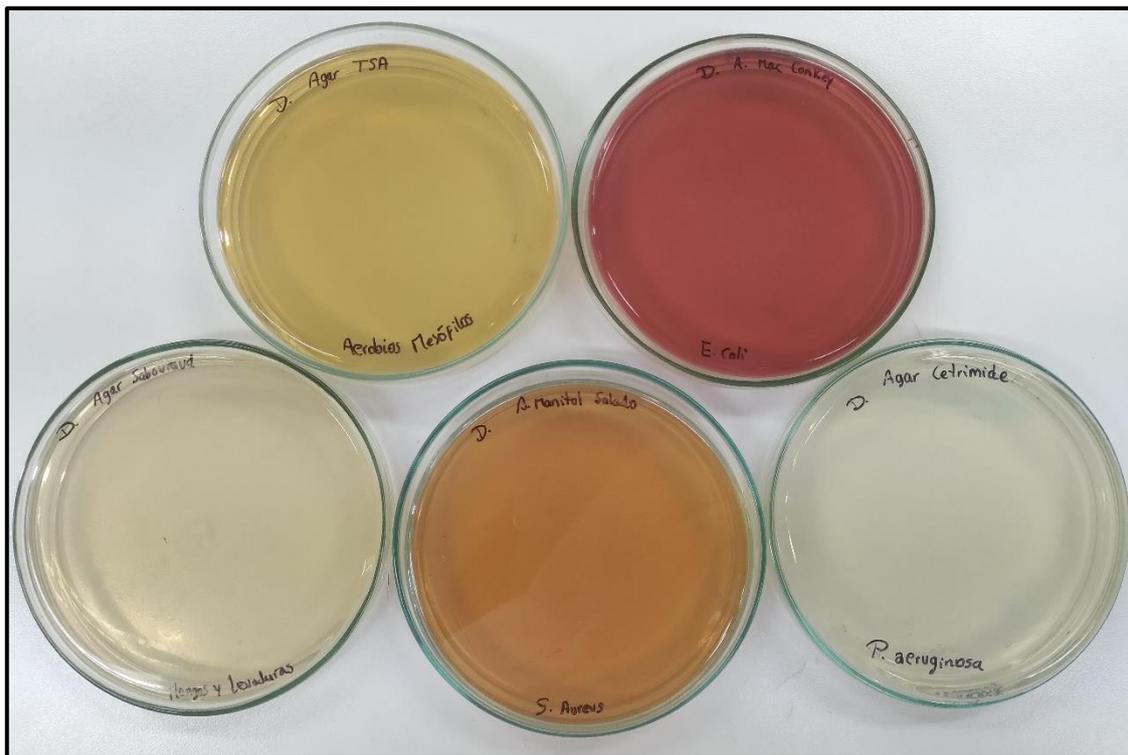
FOTOGRAFÍA N°103: Agares específicos para cada microorganismo a evaluar.



FOTOGRAFÍA N°104: Inoculación del gel dental diluido en cada una de las placas.



FOTOGRAFÍA N°105: Incubación de las placas en la estufa a 37°C por 24 horas. Hongos y levaduras a 25°C por 7 días.



FOTOGRAFÍA N°106: Placas Petri con medios de cultivo e inóculo de la dilución del gel dental elaborado después de la incubación.