

DEDICATORIA

**A mi mamá Esther Gallegos Zegarra, por su apoyo su cariño, dedicación y por su sacrificio para lograr hacer de mí una mejor persona, y su paciencia en los momentos difíciles que tuvimos,
muchas gracias madre.**

A mi papá Victoriano Moina Huarancca, por su esfuerzo apoyo, confianza y por sus sabios consejos que han sido de gran ayuda en mi vida, por hacer de mi lo que soy ahora, muchas gracias padre.

A mi herma Flor Aurora, por su confianza, su lealtad respeto y a su forma de demostrar su cariño.

Y a todos mis amigos que me apoyaron y dieron aliento para finalizar con este trabajo, muchas gracias a todos por su tiempo y ánimos de colaboración desinteresada.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional San Antonio Abad Del Cusco, por acogerme en sus aulas y apoyarnos en la conclusión de nuestra profesión.

A la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica por facilitarnos sus laboratorios y así poder finalizar con nuestra investigación.

A los Docentes de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica por brindarnos sus conocimientos, que el día de hoy forman parte de nuestro desarrollo personal y profesional.

A mi asesora M. Cs. Carla Del Carpio Jiménez por brindarnos su ayuda, aliento y apoyo en todo momento durante la realización de mi tesis.

A mis Co-Asesores: Mgt. Anahí Karina Cardona Rivero, por su apoyo ayuda en el realización de la tesis y Quim. Ciro Tomaylla Cruz por su apoyo ayuda en el análisis químico.

Al Departamento de Farmacia, que me dio su ayuda incondicional proporcionándonos materiales y utilización de los laboratorios.

INDICE

RESUMEN	viii
ABREVIATURAS Y/O SIMBOLOS.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	xiii

CAPITULO I ASPECTOS GENERALES

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.2 FORMULACION DEL PROBLEMA	3
1.3 OBJETIVOS.....	3
1.3.1 OBJETIVO GENERAL	3
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA	4
1.5 HIPOTESIS.....	5

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1 ANTECEDENTES.....	6
2.1.1 ANTECEDENTES ETNOBOTÁNICOS.....	6
2.1.2 ANTECEDENTES FITOQUÍMICOS.....	7
2.1.3 ANTECEDENTES FARMACOLÓGICOS.....	8
2.2 BASES TEÓRICO – CIENTÍFICAS.....	133
2.2.1 ESPECIE VEGETAL <i>Luma chequen</i> (Molina) A.Gray " ARRAYÁN"	13
2.2.1.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	14
2.2.1.2 USOS DE LA ESPECIE	15
2.2.2 ESPECIE VEGETAL <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling. "YURAQ MUÑA"	16
2.2.2.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	17
2.2.2.2 USOS DE LA ESPECIE	18
2.2.3 ACEITE ESENCIAL.....	18
2.2.3.1 EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES	18
2.2.4 CAVIDAD BUCAL.....	19
2.2.5 PATOLOGÍA BUCAL.....	20
2.2.5.1 CARIES DENTAL.....	20
2.2.5.2 HALITOSIS	21
2.2.6 PLACA DENTAL.....	24
2.2.7 MICROBIOLOGIA ODONTOLÓGICA.....	24
2.2.7.1 GÉNEROS Y ESPECIES MICROBIANAS PRESENTES EN LA CAVIDAD BUCAL	24
2.2.7.2 DISTRIBUCIÓN DE MICROORGANISMOS EN LA CAVIDAD BUCAL.....	28
2.2.8 EL CEPARIO.....	29

2.2.9 CRECIMIENTO BACTERIANO.....	29
2.2.9.1 CURVA DE CRECIMIENTO	30
2.2.10 EFECTO ANTIBACTERIANO.....	30
2.2.10.1 MEDICION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA	30
2.2.11 COLUTORIO O ENJUAGUE BUCAL.....	33
2.2.11.1 FORMULACION DE COLUTORIO	34
2.2.11.2 COLUTORIOS USADOS COMO PATRÓN.....	35
2.2.12 CARACTERIZACION QUÍMICA.....	39
2.2.12.1 CROMATOGRAFÍA	39

CAPÍTULO III
MATERIALES Y MÉTODOS

3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
3.1 MATERIALES BIOLÓGICOS	41
3.1.1 MATERIAL VEGETAL.....	41
3.1.2 MATERIAL MICROBIANO.....	41
3.2. PATRÓN COMPARATIVO	41
3.3 MATERIALES E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO	41
3.3.1 MATERIALES DE CAMPO.....	41
3.3.2 MATERIALES DE LABORATORIO.....	42
3.3.3 EQUIPOS DE LABORATORIO.....	43
3.3.4 SOLVENTES Y REACTIVOS.....	43
3.3.5 MEDIOS DE CULTIVO.....	44
3.3.6 INSUMOS	44
3.3.7 OTROS MATERIALES	44
3.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	44
3.4.1 DISEÑO METODOLÓGICO.....	44
3.4.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	44
3.4.1.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	45
3.4.2.2 DISEÑO DE PRUEBA ANTIBACTERIANA DE COLUTORIOS ELABORADOS CON ACEITES ESENCIALES.....	47
3.5 DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	48
3.5.1 VARIABLES IMPLICADAS.....	48
3.5.1.1 VARIABLES INDEPENDIENTES	48
3.5.1.2 VARIABLES DEPENDIENTES	50
3.5.2 VARIABLES NO IMPLICADAS.....	55
3.5.2.1 VARIABLES INTERVINIENTES	55
3.5.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	55
3.5.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	55
3.5.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	56
3.6 PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	57
3.6.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL	58
3.6.1.1 RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA.....	58
3.6.1.2 SELECCIÓN DE LA MUESTRA	58

3.6.2 DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD.....	58
3.6.3 OBTENCION DE ACEITE ESENCIAL DE <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) <i>A.Gray</i> "Arrayan" y <i>Minthostachys spicata</i> (<i>Benth</i>). <i>Epling</i> . "Yuraq muña"	59
3.6.4 DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) <i>A.Gray</i> "Arrayan" Y <i>Minthostachys mollis</i> "Yuraq muña"	60
3.6.5 FORMULACIÓN Y ELABORACION DE COLUTORIO ELABORADO CON ACEITES ESENCIALES	61
3.6.5.1 FORMULACIÓN DE COLUTORIO ELABORADO CON ACEITES ESENCIALES DE <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) <i>A.Gray</i> "Arrayan" y <i>Minthostachys spicata</i> (<i>Benth</i>). <i>Epling</i> . "Yuraq muña"	61
3.6.5.2. ELABORACIÓN DE COLUTORIO ELABORADO CON ACEITES ESENCIALES DE <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) <i>A.Gray</i> "Arrayan" y <i>Minthostachys spicata</i> (<i>Benth</i>). <i>Epling</i> . "Yuraqmuña"	63
3.6.6 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA	65
3.6.6.1 PRIMERA FASE: PRUEBAS CON ACEITES VEGETALES	65
3.6.6.2 SEGUNDA FASE: PRUEBA DEL COLUTORIO ELABORADO CON ACEITES ESENCIALES.....	67

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 DE LA PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	69
4.1.1 RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS.....	69
4.1.2 SECADO DE LA PLANTA.....	69
4.1.3 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD	69
4.2 OBTENCION DE ACEITES ESENCIALES "ARRAYAN" <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) <i>A.Gray</i> Y "MUÑA" <i>Minthostachys spicata</i> (<i>Benth</i>). <i>Epling</i>	71
4.2.1 PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LOS ACEITES ESENCIALES	71
4.3 ENSAYOS PRELIMINARES.....	72
4.3.1 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS.....	72
4.3.2 PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS.....	73
4.3.3 DETERMINACION DE LA PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DE "ARRAYAN" <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) <i>A.Gray</i> Y "YURAQ MUÑA" <i>Minthostachys spicata</i> (<i>Benth</i>). <i>Epling</i>	74
4.3.4 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ACEITES ESENCIALES	75
4.4 DETERMINACIÓN DE LOS PORCENTAJES DE LOS COMPONENTES DE LOS ACEITES ESENCIALES POR CROMATOGRAFÍA DE GASES	76
4.4.1 CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO AL ESPECTRO DE MASAS DE "Arrayan" <i>Luma chequen</i> (<i>Molina</i>) <i>A.Gray</i>	76
4.4.2 CROMATOGRAFÍA DE GASES DE ACOPLADO A ESPECTROS DE MASAS DE "Yuraq muña" <i>Minthostachys spicata</i> (<i>Benth</i>). <i>Epling</i>	78
Se observa el resumen de los resultados en el cuadro N°: 4.8.....	78

4.5 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES FRENTE A CEPAS DE <i>Streptococcus mutans</i> ATC 25175.....	79
4.5.1 ACTIVACIÓN DE LA CEPA	79
4.5.2 CURVA DE CRECIMIENTO ANTIBACTERIANO.....	79
4.5.3 PRUEBA PRELIMINAR DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS ACEITES ESENCIALES.....	80
4.5.3.1 PRUEBA PILOTO DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA POR MÉTODO DE DILUCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES	81
4.5.3.2 DETERMINACIÓN IN-VITRO DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB) DE LOS ACEITES ESENCIALES MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN EN MEDIO LÍQUIDO .	82
4.5.3.3 DETERMINACIÓN IN-VITRO DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE LOS ACEITES ESENCIALES MEDIANTE EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO.	84
4.6 FORMULACIÓN Y ELABORACIÓN DE COLUTORIO CON ACEITE ESENCIAL DE "ARRAYAN" <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) <i>A.Gray</i> Y "YURAQ MUÑA" <i>Minthostachys spicata</i> (<i>Benth</i>). <i>Epling</i>	95
4.6.1 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS COLUTORIOS ELABORADOS Y LOS ENJUAGUES BUCALES COMERCIALES POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN MEDIO SÓLIDO.....	97
CONCLUSIONES.....	103
SUGERENCIAS.....	105
BIBLIOGRAFÍA	106
ANEXOS.....	113

INDICE DE CUADROS

CUADRO N°: 2.1 Clasificación de la halitosis	22
CUADRO N°: 2.2 Necesidades de tratamiento	23
CUADRO N°:2.3 Porcentaje de distribución de microorganismos en la cavidad bucal	28
CUADRO N°:2.4 Datos comparativos del efecto antiplaca y antigingivitis de los antimicrobianos más utilizados.	33
CUADRO N°: 2.5 Colutorio de nistatina (preparación extemporánea)	34
CUADRO N°: 2.6 Colutorio de clorhidrato de lidocaína.....	34
CUADRO N°: 3.1 Resumen de operacionalización de variables implicadas	54
CUADRO N°:3.2 Fórmula Unitaria Colutorio A: Colutorio elaborado con aceite esencial de <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.Gray"Arrayan"	62
CUADRO N°:3.3 Fórmula Unitaria Colutorio B: colutorio elaborado con aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling. "Yuraq muña"	62
CUADRO N°:3.4 Fórmula Unitaria Colutorio C: colutorio elaborado con aceite esencial de: <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.Gray"Arrayan"50% Y <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling. "Yuraq muña"50%	63
CUADRO N°:4.1 Porcentaje de humedad de "Arrayan" <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.GrayY "Yuraq Muña" <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling.	70
CUADRO N°:4.2 Porcentaje de rendimiento de "ARRAYAN" <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.GrayY "MUÑA" <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling.....	71
CUADRO N°:4.3 Características organolépticas de los aceites esenciales de "ARRAYAN" <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.GrayY "YURAMUÑA" <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling.....	72
CUADRO N°:4.4 Propiedades fisicoquímicas de los aceites esencial de "ARRAYAN" <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.GrayY "YURAMUÑA" <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling.	73
CUADRO N°:4.5 Resultados de pruebas de solubilidad de los aceites esenciales de "ARRAYAN" <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.GrayY "YURAMUÑA" <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling.	74
CUADRO N°:4.6 Resultados de control microbiológico de aceites esenciales de "Arrayan" <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.GrayY "Muña" <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling.	75
CUADRO N°:4.7 Resumen de la composición química por cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas del aceite esencial de "arrayan" <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.Grayen concordancia con la biblioteca de nist v 8.0	77
CUADRO N°:4.8 Resumen de la composición química por cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas del aceite esencial de "yuraq muña" <i>minthostachys spicata</i> (benth). epling. en concordancia con la biblioteca de nist v 8.0	78
CUADRO N°: 4.9 Curva de crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	80
CUADRO N°: 4.10 Concentración mínima inhibitoria por el método de dilución.	81
CUADRO N°: 4.11 DETERMINACIÓN DE UFC POR EL METODO DEL VACIADO EN AGAR PCA (MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO).....	82
CUADRO N°: 4.12 Concentración mínima bactericida por el método del vaciado.....	83

CUADRO N°: 4.13 Resultados de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de "Arrayan" <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.Gray Y "Yuraq muña" <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epli. sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	86
CUADRO N°: 4.14 Resultado descriptivo de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del aceite esencial de "arrayan" luma chequen (molina) a.gray, frente a las cepas de streptococcus mutans atcc 25175.....	87
CUADRO N°: 4.15 Análisis de varianza de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del aceite esencial de "Arrayan" <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.Gray, frente a las cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	88
CUADRO N°:4.16 Comparaciones multiples de duncan de los subconjuntos de la actividad antibacteriana del aceite esencial de "arrayan" luma chequen (molina) a.gray, frente a las cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	89
CUADRO N°: 4.17 Resultados descriptivo de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling. "Yuraq muña", FRENTE A LAS CEPAS DE <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	91
CUADRO N°: 4.18 Análisis de varianza de los halos de inhibición de lactividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling. "Yuraq muña", FRENTE A LAS CEPAS DE <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	92
CUADRO N°: 4.19 Análisis de varianza de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling. "Yuraq muña", frente a las cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	93
CUADRO N°: 4.20 Características de los colutorios elaborados con aceite esenciales y colutorios comerciales.....	95
CUADRO N°: 4.21 Resultado de la actividad antibacteriana de los colutorios elaborados sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	97
CUADRO N°: 4.22 Resultados descriptivo de los halos de inhibición de los colutorios elaborados con aceites esenciales de "ARRAYAN" <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.GrayY "YURAQ MUÑA" <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling. sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	98
CUADRO N°: 4.23 Análisis de varianza de los halos de inhibición de actividad antibacteriana de los colutorios elaborados con aceites esenciales de "ARRAYAN" <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.GrayY "YURAQ MUÑA" <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling. Sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	99
CUADRO N°: 4.24 Análisis de varianza de los halos de inhibición de los colutorios elaborados con aceites esenciales de "ARRAYAN" <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.GrayY "YURAQ MUÑA" <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling. SOBRE CEPAS DE <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	100

INDICE DE GRAFICOS

GRÁFICO N°: 2.1 <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.Gray,	26
GRÁFICO N°: 2.2 <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling,	26
GRÁFICO N°: 4.1 Análisis de varianza de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del aceite esencial de "ARRAYAN" <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.Gray, FRENTE A LAS CEPAS DE <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	90
GRÁFICO N°: 4.2 Resultados descriptivo de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>minthostachys spicata</i> (benth). epling. "yuraqmuña", frente a las cepas de <i>streptococcus mutans atcc 25175</i>	94
GRÁFICO N°: 4.3 Resultados de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana de los colutorios elaborados con aceites esenciales de "ARRAYAN" <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.Gray Y "YURAQ MUÑA" <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling. SOBRE CEPAS DE <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	101

RESUMEN

El presente trabajo de investigación fue realizado con el objetivo de determinar la actividad antibacteriana In-Vitro de los colutorios elaborados con los aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán" y *Minthostachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq muña" frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Para el cual se procedió con la obtención de aceites esenciales, por el método de destilación por arrastre de vapor, sometiéndose luego a pruebas de análisis organoléptico, fisicoquímico. Se realizó pruebas de análisis de solubilidad para determinar el solvente adecuado que sirvió como vehículo para las diferentes pruebas de actividad antibacteriana. También se realizó el control microbiológico de ambos aceites esenciales indicando que están libres de contaminantes microbiológicos. A continuación se determinó los componentes mayoritarios por cromatografía de gases acoplado a espectro de masas, obteniéndose que, el aceite esencial de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán" contienen; 61.19% de α -pineno, 8.18% de β -pineno y 7.41% de Linalol, mientras que el aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq muña", contienen: 30.6% de pulegona y 29.65% de Mentona.

Para evaluar el efecto antibacteriano se utiliza la cepa bacteriana de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, determinándose la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para los aceites esenciales por el método Kirby Bawer o disco – difusión, donde el aceite esencial de Arrayan tiene CMI de 25mgL/500ul con un halo de 8.30 mm y el aceite de "Yuraq muña" tiene una CMI de 25 mg/500ul con un halo de 13.53 mm , también se determinó la Concentración Mínima Bactericida por el método de "Dilución en medio líquido" encontrándose ausencia de crecimiento bacteriano para el aceite esencial de "Arrayán" al 50% y para "Yuraq muña" al 12.50%.

Luego, se realizó la preformulación y formulación de tres colutorios a bases de los aceites esenciales; el colutorio A está compuesto por aceite esencial de "Arrayan", el colutorio B: compuesto por aceite esencial de "Yuraq muña" y el colutorio C: elaborado con aceite esencial de: "Arrayan" y "Yuraq muña", los cuales fueron sometidos al control organoléptico, fisicoquímico y microbiológico y comparadas con los colutorios comerciales D= Colutorio Colgate, Colutorio E= Colutorio Dento, Colutorio F= Colutorio Listerine.

Finalmente se realizó el análisis antibacteriano de los colutorios por el método Kirby Bawer o disco en difusión, observándose los diámetros de los halos de inhibición de 11,57 mm para el colutorio A, 11.76 mm para el colutorio B y 10.96 mm para el colutorio C, comparados con los colutorios comerciales Colutorio D con 17.43 mm, Colutorio E con 14.23 mm y para el Colutorio F no se formo ningún halo de inhibición.

Se concluye que el colutorio elaborado con el aceite esencial de *Mintosthachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq muña" presentó una mayor actividad antibacteriana que *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayan", mientras el colutorio elaborado con ambos aceites esenciales presentar menor actividad antibacteriana comparados a los dos colutorios, todos los colutorios elaborados tuvieron una actividad antibacteriana superior a los colutorios comerciales F, e inferiores a D y E.

Palabras clave: Aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayan" y *Mintosthachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq muña", Efecto antibacteriano, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Colutorios.

SUMMARY

This research work was done with the aim to determine the antibacterial activity of the mouthwashes In-Vitro processed with the essential oils of *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "Arrayán" and *Minthostachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq muna" against the strain of *Streptococcus mutans* ATCC 25175. For the which it proceeded with the acquisition of essential oils, by the method of steam distillation, stooping then to organoleptic tests, physicalchemical. Tests done solubility analysis to determine the suitable solvent that served as a vehicle for the various tests of antibacterial activity. There was also a microbiological control of both essential oils indicating that they are free from microbiological contaminants. It was then determined the major components by gas chromatography coupled to mass spectra, obtaining that, the essential oil of *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray Arrayán contain; 61.19 % of α -pinene, 8.18 per cent of β -pinene and 7.41 % of linalol, while the essential oil of *Minthostachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq muna", contain: 30.6 % of pulegone and 29.65 % of mentona.

To evaluate the antibacterial effect is used the bacterial strain of *Streptococcus mutans* ATCC 25175, determined the minimum inhibitory concentration () for essential oils by the Kirby method Bawer or disk - dissemination, where the essential oil of Arrayan has WCC 25mg/ 500ul with a halo of 8.30 mm and the oil of "Yuraq Muña" has a MIC of 25 mg/ 500ul with a halo of 13.53 mm, we also determined the minimum bactericidal concentration by the method of "dilution in liquid medium" found no bacterial growth for the essential oil of "Myrtle" at 50% and for "Yuraq Muña" to 12.50 %.

Then, there was the preformulation and formulation of three mouthwashes to databases of the essential oils; the mouthwash TO is composed of essential oil of "Myrtle", the mouthrinse B: composed of essential oil of "Yuraq muna" and the mouthwash C: prepared with essential oil of: "Myrtle" and "Yuraq muna", which were subjected to the organoleptic control, physico-chemical and microbiological and compared with the commercial mouthrinses D= Mouthrinse Colgate, Mouthrinse E= Mouthrinse Dento, Mouthrinse F= Listerine mouthwash.

Finally the analysis was made of antibacterial mouthrinses by the Kirby method Bawer or disk diffusion, observing the diameters of the inhibition halos of 11.57 mm for the mouthwash, 11.76 mm for mouthwash B and 10.96 mm for mouthwash C, compared with the commercial mouthrinses Mouthrinse D with 17.43mm, mouthwash AND with 14.23 mm and for mouthwash F was not formed no halo of inhibition.

It is concluded that the mouthwash produced with the essential oil of *Mintosthachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq Muña" presented a higher antibacterial activity than *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán", while the mouthwash prepared with both essential oils present less antibacterial activity compared to the two rinses, all mouthwashes produced had a antibacterial activity superior to the commercial mouthrinses F, but lower than D and E.

Key Words: essential oils of *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray Arrayán and *Mintosthachys spicata* (Benth).

Epling "Yuraq muna", antibacterial effect, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, mouthrinses.

ABREVIATURAS

ATCC: American Type Culture Collection.

ANOVA: Análisis de varianza.

BHI: Brain Heart Infusion.

mm: Milímetro

CMI: Concentración mínima inhibitoria.

CMB: *Concentración Mínima Bactericida*.

DMSO: Dimetilsulfóxido.

D.O: Densidad óptica.

FDA: Food and Drug Administration

g: *Gramo*

I.R.: Índice de Refracción.

mg: Miligramo.

ml: Mililitro.

m.s.n.m.: Metros Sobre el nivel del Mar.

pH: Potencial de Hidrogeniones.

rpm: Revoluciones por Minuto.

sp: *Especie*.

UFC: Unidades Formadoras de Colonias.

UI: Unidad Internacional

µg: Microgramos.

µl: Microlitros.

INTRODUCCIÓN

La cavidad bucal se encuentra colonizada por un gran número de bacterias, entre las que podemos encontrar microorganismos oportunistas, al aumentar en número son capaces de producir afecciones y enfermedades estomatológicas. Gracias a estudios epidemiológicos se ha demostrado una relación directa entre número de *Streptococcus mutans* y la presencia de caries dental. En la actualidad se utiliza para el diagnóstico de caries dental por detección de esta bacteria en la saliva humana. (31)

Las plantas medicinales vienen acompañando la evolución del hombre, demostrando históricamente la cura ancestral, por lo que forman parte de la medicina tradicional, según los usos tradicionales, las plantas medicinales: *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray “**Arrayan**”, son utilizados para un gran número de afecciones entre los en dolores dentales y además se conoce que *Mintosthachys spicata* (*Benth*). *Epling* “**Yuraq muña**” tienen actividad antibacteriana. Por lo tanto su estudio ha de conducir al hallazgo de un gran número de moléculas bioactivas con posible aplicación preventiva (7) (8).

Las plantas aromáticas contienen resinas y esencias aromáticas que a la vez se encuentran en los aceites esenciales, estos tienen capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano, siendo una alternativa de solución para utilización de dichas plantas aromáticas en el arsenal terapéutico (26).

Los colutorios son soluciones acuosas de cierta viscosidad que contienen sustancias destinadas a tratar alguna afección a nivel de la cavidad bucal. Suelen llevar codisolventes como la glicerina, el sorbitol, el alcohol y tensoactivos que faciliten la solubilización de los componentes de la formulación, por tal razón los aceites esenciales son una gran alternativa en la formulación de colutorios utilizados para la prevención de afecciones estomatológicas (40).

CAPITULO I

ASPECTOS GENERALES

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad nos encontramos afectados por diferentes alteraciones de la salud oral, siendo un problema que viene aquejando a la salud oral a nivel mundial, consiguientemente es importante controlar y prevenir las enfermedades dentales mediante el uso de productos de prevención para la higiene bucodental, por ende se plantea dar solución a este problema, mediante el ataque hacia el principal agente etiológico de problema de salud bucodental y la formulación y elaboración de un colutorio elaborado con recursos de nuestra región.(7)

Por lo que el uso de plantas medicinales ha sido y seguirá siendo una alternativa preventiva y curativa para la salud, siendo necesario utilizar responsablemente los productos naturales de nuestra región para su cuidado y prevalencia de las especies vegetales para su utilización en el futuro. (7)

Salud bucodental se define como la ausencia de dolor oro-facial crónico, cáncer de boca o garganta, llagas bucales, enfermedades periodontales, caries dental y pérdida de dientes, y trastornos que afectan a la boca y la cavidad bucal. (1)

La palabra "caries", de origen latino, significa degradación o rotura de los dientes. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la definición de la caries dental sería "un proceso patológico localizado, post-eruptivo, de origen externo que produce un reblandecimiento del tejido dentario duro y que conduce a la formación de una cavidad". Según un informe de la OMS del año 2004, la caries dental afecta entre el 60 y el 90 % de la población escolar y a la gran mayoría de los adultos. (2)

La halitosis es un síntoma o un signo caracterizado por mal aliento u olor en la boca. En su versión crónica está provocada por algunas bacterias que afecta al 25% de la población. (3)

Independientemente del origen de la halitosis, las bacterias representan un importante papel en la producción del mal olor. El estudio de McNamara demostró mediante técnicas de incubación de saliva la presencia de una flora de predominios Gram negativo asociada a la formación de componentes mal olorosos. Otros autores han buscado la asociación de bacterias específicas, entre las que encontramos especies como *Fusobacterium*, *Veillonella*, *T.denticola*, *P.gingivalis*, *Porfiromonas endodontalis*, *bacteriodes* y *peptoestreptococcus*.(4)

El enjuague bucal es una solución que suele usarse para mantener la higiene bucal, después del cepillado de dientes, para eliminar las bacterias y microorganismos causantes de caries y eliminar el aliento desagradable. (5)

Minthostachys spicata (Benth). *Epling* (Yuraq muña), utilizado en la actividad antibacteriana del aceites. (6)

Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray (Arrayán), es utilizado en mal aliento, enjuague o gárgaras con el agua en que se hirvió las hojas. (7).

La finalidad del presente trabajo de investigación fue evaluar la actividad antibacteriana in vitro de colutorios elaborados con aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray (Arrayán) y *Minthostachys spicata* (Benth). *Epling* (Yuraq muña) frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La utilización de plantas medicinales para el tratamiento alternativo en la prevención de la salud bucodental viene siendo una solución, por lo cual se busca la utilización de las plantas en la elaboración de colutorios bucales apropiados para el tratamiento adecuado.

1.2 FORMULACION DEL PROBLEMA

¿Presentarán los colutorios elaborados con aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán" y *Minthostachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq muña" efecto antibacteriano in-vitro frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la actividad antibacteriana In-Vitro de los colutorios elaborados con aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán", *Minthostachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq muña" frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener aceite esencial de las hojas, tallos y zonas apicales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán" y *Minthostachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq muña".
2. Determinar el porcentaje de rendimiento de los aceites esenciales de las hojas, tallos y zonas apicales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán" y *Minthostachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq muña".
3. Evaluar las características físicas-químicas e identificar los componentes mayoritarios por cromatografía de gases de los aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán" y *Minthostachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq muña".

4. Determinar la concentración mínima inhibitoria de los aceites esenciales de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "**Arrayán**" y *Minthostachys spicata* (*Benth*). *Epling* "**Yuraq muña**" frente a la cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
5. Formular y elaborar colutorios con aceites esenciales de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "**Arrayán**" y *Minthostachys spicata* (*Benth*). *Epling* "**Yuraq muña**".
6. Evaluar las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de los colutorios elaborados.

1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

Conocimiento: En el campo farmacéutico y odontológico es importante utilizar los conocimientos tradicionales, efectuar investigaciones y utilizar recursos florísticos medicinales con fin de prevenir afecciones y enfermedades estomatológicas.

Las afecciones y enfermedades estomatológicas desde tiempos remotos hasta la actualidad vienen afectando la salubridad humana por ser problemas generales que aquejan a la sociedad humana sin distinción de aspectos sociales en la producción de dichos problemas.

Significancia: Las plantas medicinales de la región deben ser utilizadas en la investigación para la búsqueda de formulación y elaboración de productos farmacéuticos que sirva de para el control y prevención de la salud bucodental producidas por bacterias cariogénicas, consecuentemente viene siendo una opción la utilización especies vegetales propios de nuestra región.

Viabilidad: La presente investigación es viable, por contar con los materiales y equipos necesarios para la ejecución de la investigación.

1.5 HIPOTESIS

Los colutorios elaborados con aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "**Arrayán**" y *Minthostachys spicata* (Benth). Epling "**Yuraq muña**", presentan actividad antibacteriana In-vitro frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1 ANTECEDENTES ETNOBOTÁNICOS

ARICAPA BARRERA Dina Paola (2009), en el trabajo de investigación **“ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PLANTAS SOBRE MICROORGANISMOS CARIOGÉNICOS”** menciona la utilización de plantas con fines terapéuticos es de gran utilidad ya que ellas son obtenidas innumerables sustancias químicas, vegetales que pueden considerarse fármacos y son empleados en diferentes países, de ellos el 74% fue descubierto a partir de su empleo en medicina tradicional, la investigación en este sentido brinda oportunidad nuevos agentes activos. Entre las sustancias de origen vegetal se encuentran líquidos de la cáscara de nuez del marañón-*Anacardium occidentale* que posee actividad antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*. (8)

MANTILLA HOLGUÍN Justo y OLAZÁBAL CASTILLO Oscar (2008), en el libro **“LAS PLANTAS MEDICINALES DE NUESTRA MADRE TIERRA”** menciona que el Arrayán es utilizado para tratar el mal aliento, enjuague o gárgaras con el agua en que se hirvió las hojas, También es utilizado como expectorante y astringente bajo la forma de infusión. (7)

CENTRO DE INVESTIGACION DE LA PRODUCCIÓN INDUSTRIAL (CIPI) RESPONSABLE DE EDICION – CIPI, UNIVERSIDAD DE LIMA (1994), en el libro **“PLANTAS MEDICINALES”**, menciona la propiedades terapéuticas de *Minthostachys mollis*; como antimicrobiano, las partes empleadas son: tallos y preparación: aceite. (9)

CHAVEZ C., Juan PROYECTO - ICA-GTZ (1998), en el libro **“PLANTAS MEDICINALES EN ATENCION PRIMARIA DE SALUD, AGROINDUSTRIA, FITOQUIMICA Y ECOTURISMO: PERSPECTIVAS DE DESARROLLO EN LA REGION LOS LIBERTADORES WARI”**. Menciona entre los usos de *Minthostachys mollis* el uso excelente contra la halitosis (mal aliento bucal). (10)

2.1.2 ANTECEDENTES FITOQUÍMICOS

CARHUAPOMA Y. Mario y otros (2005), en el trabajo de investigación **“ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTOIXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Luma chequen* (Molina) A. Gray “Arrayán”**. Menciona, la caracterización de la composición de química de *Luma chequen* (Molina) A. Gray “Arrayán”; reporta un rendimiento (1.25% v/p), rotación óptica (+6 a 8), densidad (0.9044 g/ml) e índice de refracción (1.470). Por CG-SM y RMN-¹³ C se elucidó las estructuras de 40 compuestos al 93.6% de la muestra total: hidrocarburos monoterpénicos (68.8%), conteniendo α -pineno (57.3%) y β -pineno (6.2%); hidrocarburos oxigenados (18.9%), destacando: 1,8 cineol(7.5%), linalol(3.7%) y trans-verbenol (2.2%);sesquiterpenos (3.0%), con el β -selineno (1.3%) y óxido de β -cariofileno(0.9%); y fracción no terpénica (3.0%). (11)

MANTILLA HOLGUÍN Justo y OLAZÁBAL CASTILLO Oscar (2008), en el libro **“LAS PLANTAS MEDICINALES DE NUESTRA MADRE TIERRA”** menciona la composición curativa de la planta medicinal *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray (Arrayán) son Aceites esenciales. (7)

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS (1994), en el libro **“CATALOGO DE PLANTAS MEDICINALES”**, menciona la composición de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* “Muña”, es el componente responsable del efecto antibacteriano. (9)

CHAVEZ C., Juan PROYECTO - ICA-GTZ (1998), en el libro **“PLANTAS MEDICINALES EN ATENCION PRIMARIA DE SALUD, AGROINDUSTRIA, FITOQUIMICA Y ECOTURISMO: PERSPECTIVAS DE DESARROLLO EN LA REGION LOS LIBERTADORES WARI”** Menciona, Los principios activos de *Minthostachys mollis* son: aceites esenciales, carbohidrato, calcio, fósforo, fierro, trazas de vitamina B1, esencias, mentol. (10)

FUERTES RUITÓN Cesar M.y MUNGUÍA CHIPANA Yolanda (2001), en el trabajo de investigación **“ESTUDIO COMPARATIVO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* (K)Griseb “Muña” DE TRES REGIONES PERUANAS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS”**;

menciona; los componentes principales del aceite esencial, de acuerdo al lugar de procedencia, los siguientes: El aceite esencial de Tarma (Junín, Región A.A.Cáceres): 1-tetradeceno (23,14%), 2S-Trans-mentona (23,00%) y pulegona (13,21%); en el aceite esencial de Huaraz (Ancahs Region Chavín): 2S-Trans-mentona (41,48%), pulegona (16,02%), γ -terpineno (7,55%) y en el caso del aceite esencial de Pampas(Huancavelica, Región Los Libertadores Wari): 2S-Trans-mentona (34,51%), pulegona (28,62%), nerolidol (5,08%).(12)

CARHUAPOMA Y. Mario, LÓPEZ G, Sofía, ROQUE A. Mirtha, VELAPATIÑO Billie, BELL C, WHU W. Delia (2009), en el trabajo de investigación **“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* Griseb “YURAQ MUÑA”** mencionan; la composición de aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb posee una densidad de 0,9029 g/ml, índice de refracción 1,56689 y el porcentaje de rendimiento 2,4 v/p. Se detectó presencia de fenoles, los que validan la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *M. mollis*. (13)

2.1.3 ANTECEDENTES FARMACOLÓGICOS

MORANTE MUDARRA Sergio (2003), en tesis doctoral **“VALORACIÓN CRUZADA Y A DOBLE CIEGO, MEDIANTE EL MODELO DE GINGIVITIS EXPERIMENTAL, DE LA EFICACIA DE TRES COLUTORIOS DE CLORHEXIDINA SIN ALCOHOL FRENTE A LA PREVENCIÓN DE GINGIVITIS Y A LA NEOFORMACIÓN DE PLACA SUPRAGINGIVAL”**

Los mecanismos fisiológicos específicos del huésped y bacterianos que inducen el paso de gingivitis a periodontitis, no son del todo conocidos por lo que la prevención en el desarrollo de afectaciones periodontales se basa en un adecuado control de placa bacteriana.

La limpieza mecánica actúa sobre la superficie dentaria no esterilizando la superficie sino limitando la masa bacteriana dejando una pequeña placa no patógena que es compatible con salud gingival. El control de placa bacteriana, se basa en una técnica de cepillado eficaz, así como unos hábitos higiénicos bucodentales adecuados. Es evidente que una gran parte de la población no

consigue un adecuado control de placa, lo que se refleja en la alta incidencia de gingivitis y periodontitis sin hablar del índice de caries.

De todos los antisépticos bucodentales, la clorhexidina es sin duda el más eficaz en control de placa y de inflamación gingival. La forma más extendida es la de colutorio o enjuagatorio bucodental. La mayoría de las formulaciones comerciales de clorhexidina presentan alcohol en su formulación y ya que éste no aporta acción terapéutica y es un potencial irritante, parece justificada la búsqueda de colutorios de clorhexidina en solución no alcohólica pero que mantengan su efectividad. (14)

SALAZAR A. Luis; MEDINA Felipe; DONOSO Francisco; BARRIENTOS Leticia Y SANHUEZA Antonio (2009), en el trabajo de investigación "**ACCIÓN ANTIMICROBIANA IN VITRO DE LA MIEL DE ABEJAS SOBRE LOS MICROORGANISMOS CARIOGÉNICOS ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO *mutans***" mencionan; fue evaluada la actividad antimicrobiana in vitro de cuatro muestras de mieles producidas en nuestro país, sobre los recuentos de estreptococos del grupo *mutans*, en escolares con alto riesgo de caries dental. Se obtuvieron muestras de saliva de 20 escolares, con edades entre 12 y 14 años, pertenecientes a la ciudad de Temuco, Región de La Araucanía (Chile). El recuento de estreptococos del grupo *mutans* en saliva fue estimado por el método microbiológico semi-cuantitativo Linoscreen. La evaluación de la acción antibacteriana de la miel se realizó en 9 escolares que presentaron los recuentos más elevados de estreptococos del grupo *mutans*, utilizando concentraciones de miel entre 5% y 35%. Los datos mostraron que el 100% de los niños analizados poseían colonias de estreptococos del grupo *mutans* en su saliva. Además, se verificó que el 45% (9/20) de los escolares se encontraba en la categoría de alta actividad cariogénica. Con este estudio, también se comprobó que la miel de abejas posee actividad antimicrobiana sobre las bacterias estreptococos del grupo *mutans* y que no existían diferencias significativas entre las 4 mieles utilizadas, con relación a su capacidad antibacteriana ($p > 0.05$). Por otra parte, este estudio también permitió demostrar que a mayor concentración de miel utilizada mayor era la reducción de las bacterias cariogénicas. En conclusión, en el presente estudio se demostró la acción antimicrobiana in vitro de la miel sobre los recuentos de bacterias cariogénicas estreptococos del grupo *mutans*. Sin

embargo, serán necesarios futuros estudios para identificar y evaluar los componentes de la miel de abejas, responsables de esta propiedad. (15)

MATUTE CENTENO Maria Elena (2009), en el trabajo de investigación **“EVALUACION IN VITRO DEL EXTRACTO DE *Piper angustifolium* (MATICO) Y LA CLORHEXIDINA COMO ANTISEPTICOS BUCALES”** menciona; El presente trabajo tuvo como objetivo Evaluar el efecto antimicrobiano del extracto de *Piper angustifolium* en comparación con la clorhexidina al 0,12 % frente a la cepas de *Streptococcus mutans* y *Lactobacilos Casei* in Vitro; es un estudio de tipo longitudinal, experimental y comparativo; para lo cual se utilizaron 15 cultivos de *Streptococcus mutans* y 15 cultivos de *Lactobacilos casei*. En todas las muestras se midió el halo de inhibición según los objetivos científicos y finalmente se comparara dichas medidas. Se tomaron 100g de hojas secas y molidas que se maceraron con cantidad suficiente de alcohol de 96° por 8 días; luego se procedió al filtrado y desecación a temperatura ambiente por 4 días. los resultados han demostrado que, el diámetro del halo de inhibición sobre el estreptococos mutans a las 24 y 48 horas fue mayor en el extracto alcohólico de matico en comparación con el clorhexidine al 0,12 % y el diámetro del halo de inhibición sobre el lactobacilos casei a las 24 y 48 horas fue mayor en el extracto alcohólico de matico en comparación con el clorhexidine al 0,12 %. Recomendamos comprobar el efecto antibacteriano del matico en la preparación de pomadas para ser utilizadas en pacientes con enfermedad periodontal y realizar estudios para demostrar la eficacia de una pomada en base de matico para la estomatitis subprotesis. (16)

ALVARADO VILLANUEVA Verónica y MOROMI NAKATA Hilda (2010), en el trabajo de investigación de **“PLANTAS MEDICINALES: EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE *Plantago major* L, *Erythroxylum novogranatense*, *Plowman var truxillense* y *Camelliasinensis* SOBRE BACTERIAS DE IMPORTANCIA BACTERIOLÓGICA”** mencionan; El objetivo de la investigación fue comparar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de tres plantas medicinales: *Plantago major* L. (llantén), *Erythroxylum novograntense vartruxillense* (coca trujillo) y *Camellia sinensis* (té verde) mediante el método de difusión en agar con discos, sobre

cinco cepas patrones de bacterias orales: *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus*. ATCC 314, *Actinomyces viscosus* ATCC 15987, *Prevotella melaninogenica* ATCC 25845. Se obtuvieron extractos hidroalcohólicos de principios activos totales procedentes de las hojas secas de cada una de las plantas, mediante maceración alcohólica con alcohol etílico al 70 % y posterior evaporación del solvente con el empleo del rotavapor. Cada extracto se diluyó en alcohol etílico al 70 % en las concentraciones de 25 µg/mL y 50 µg/mL. Estas soluciones fueron comparadas con PerioAid® (clorhexidina 0,012 %) como control positivo y con alcohol etílico al 70 %, como control negativo. Al realizar las pruebas de sensibilidad *in vitro*, se obtuvieron los siguientes resultados: los tres extractos hidroalcohólicos en ambas concentraciones presentaron actividad antibacteriana mayor al alcohol etílico (5,8 mm) y menor que el PerioAid® (22,0 mm) sobre las cinco cepas bacterianas en estudio. La mayor actividad presentó el extracto hidroalcohólico de *Camellia sinensis* a 50 µg/mL, la menor actividad presentó *Plantago major* a 25 µg/mL. Se concluye que los tres extractos hidroalcohólicos en las diluciones de 25 y 50 µg/mL presentaron actividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces viscosus*, *Prevotella melaninogenica* y *Fusobacterium nucleatum*. El efecto antibacteriano aumentó con la concentración en *P. melaninogenica*, que fue la cepa más sensible y *A. viscosus* la menos sensible. (17)

DE LOS ÁNGELES MOSQUERA Tatiana y VELOZ VERA Teresa Melania (2011), en el trabajo de investigación "EFICACIA IN-VITRO DE UN COLUTORIO ELABORADO CON ACEITE ESENCIAL DE LA HOJA DE ISHPINGO *Ocotea quixos* (lam.) kostern. ex o.c.schmidt Y CLAVO DE OLOR *syzygium aromaticum* (l.) merr. & l.m. perry" mencionan; En función de la CMB del aceite esencial de ishpingo (0.26%) y del aceite esencial de clavo de olor (1.56%) frente a *Streptococcus mutans* y *Streptococcus pyogenes*, determinada mediante el método de dilución en medio líquido, se elaboró un colutorio. Con el objeto de determinar la eficacia *in vitro* del colutorio elaborado, se sembraron en el agar infusión cerebro y corazón las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Utilizándose el método de difusión en medio sólido, se colocaron 25 µL de los colutorios elaborados y de enjuagues

bucales comerciales sobre discos de papel filtro y se incubaron las placas a 37°C durante 24 horas para *S. pyogenes* y 48 horas para *S. mutans*. De acuerdo a los resultados, los colutorios elaborados produjeron halos de inhibición de crecimiento de colonias bacterianas. El análisis estadístico de los datos mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis en el software Statistix 8.0 determinó que existen diferencias entre los colutorios elaborados y los enjuagues bucales comerciales.(18)

AGUILERA María C, ROMANO E, Ramos Norys, Rojas Laura (2011), en el trabajo de investigación **“SENSIBILIDAD DEL *Streptococcus mutans* A TRES ENJUAGUES BUCALES COMERCIALES (ESTUDIO *IN VITRO*)”** El *Streptococcus mutans* es una bacteria que se relaciona con la biopelícula cariogénica. El objetivo de este estudio fue demostrar la sensibilidad *in vitro* del *S. mutans* a los compuestos triclosán, cloruro de cetilpiridinio y gluconato de clorhexidina presentes en tres enjuagues bucales comerciales mediante el método de difusión en disco de papel de filtro y comparar la sensibilidad del *S. mutans* a dichos compuestos mediante la medición de los halos de inhibición antimicrobianos. El estudio se enmarcó dentro de un diseño de investigación experimental. La muestra estuvo conformada por una cepa liofilizada de *S. mutans* la cual se sembró en placas de Petri con agar soya sobre los cuales fueron colocados discos de papel de filtro impregnados con los compuestos triclosán al 0,03% (Colgate Plax®), cloruro de cetilpiridinio al 0,053% (Oral B®) y clorhexidina al 0,12% (Peridont®) y se midieron los halos de inhibición formados alrededor de cada disco. Los resultados obtenidos demuestran que el *S. mutans* es sensible a todos los enjuagues bucales, sin embargo existieron diferencias entre las mediciones del halo de inhibición de cada enjuague, teniendo el triclosán un halo de 35 mm, clorhexidina 8 mm y cloruro de cetilpiridinio 3 mm. (19)

CARHUAPOMA Y. Mario, LÓPEZ G, Sofía, ROQUE A. Mirtha, VELAPATIÑO Billie, BELL C, WHU W. Delia (2009), en el trabajo de investigación de **“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* Griseb “YURAQ MUÑA”**, mencionan; la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Yuraq muña” frente a *Helicobacter pylori*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi* y *Pseudomonas aeruginosa*. El

aceite esencial se obtuvo por destilación con arrastre de vapor de agua. La actividad antibacteriana se determinó por el método de excavación placa cultivo; resultando en orden de sensibilidad, para *S. dysenteriae* 21,41 mm; *H. pylori* 17,07 mm; *S. typhi* 14,25 mm y *P. aeruginosa* 11,45 mm. La concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) para *H. pylori* se determinó por el método de dilución en microplacas, resultando 2 µg/mL. La densidad del aceite esencial es 0,9029 g/mL, índice de refracción 1,56689 y el porcentaje de rendimiento 2,4 v/p. Se detectó presencia de fenoles, los que validan la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *M. mollis*. (13)

2.2 BASES TEÓRICO – CIENTÍFICAS

2.2.1 ESPECIE VEGETAL *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray “ARRAYÁN”

Nombre Científico:

Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray

Clasificación taxonómica

División	:Magnoliophyta
Clase	:Magnoliopsida
Subclase	:Rosidae
Super orden	:Myrtales
Orden	:Myrtales
Familia	:Myrtaceae
Género	: <i>Luma</i>
Especie	: <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.Gray

Sinonimia:

Eugenia bella Phil, *Eugenia chequen* Feuilleé ex Molina, *Eugenia gayana* Barnéoud, *Eugenia myrtomimeta* Diels, *Eugenia pulchra* O.Berg., *Luma gayana* (Barnéoud) burret, *Myrceugenella chequen* (Feuilleé ex Molina) Kasiel, *Myrtus chequen* (Feuilleé ex Molina) Spreng.

Nombres comunes:

“Arrayán”, “rayán”, “mirto”.

Fuente: Herbario Vargas (CUZ-UNSAAC) (Anexo N°01)

2.2.1.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

GRAFICO N°:2.1

Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A. Gray



Arbusto de *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A. Gray*

Fuente: Elaboración Propia.

Aspecto general

Arbusto a arbolito de pequeño tamaño. Mide hasta 3 m de altura y 15 cm de diámetro. Es coposo, con el follaje denso y siempre verde. La copa es globosa y va desde el primer o segundo tercio.

Corteza

La corteza externa es lisa, de color marrón claro. La corteza interna es de color rosado blanquecino, con olor tenue y agradable.

Hojas

Las hojas son simples, opuestas y decusadas. Los peciolo son muy cortos, de 1 mm a 2 mm de longitud. Las láminas son elípticas, de 1 cm a 2 cm de longitud por 8 mm a 12 mm de ancho, con el ápice agudo, el borde entero y la base obtusa. Las hojas no tienen pelos y tienen un olor agradable al ser estrujadas.

Flores

Las flores son blancas y se hallan solitarias en las axilas de las hojas. Son de mediano tamaño, de 1 cm a 2 cm de longitud. Portan ambos sexos. Tienen pétalos libres entre sí, numerosos estambres de unos 7 mm de longitud y un pistilo muy pequeño.

Frutos

Los frutos son globosos y rojizos. Tienen de 5 mm a 10 mm diámetro. Portan varias semillas. (21)

2.2.1.2 USOS DE LA ESPECIE

PAMPLONA ROGER, Jorge D. (1996) en el libro **“ENCICLOPEDIA DE PLANTAS MEDICINALES”**, menciona el uso de Arrayan (*Luma chequen*) como astringente y antiséptico además de aromático. Se realiza mediante:

Uso interno: en infusión: Se prepara con 15-20 gr. De hoja y bayas en un litro de agua. Colarla y tomarla de 3 a 5 tazas al día y utilización en esencia: 1-3 gotas, tres veces diarias antes de cada comida.

El uso externo: Gargarismo con la infusión que se emplea internamente.

Lavados vaginales con esta misma infusión cuidadosamente colada e inhalaciones de la esencia. (22)

MOSCOSO CASTILLA, Mariano (1997) en el libro **“SECRETOS MEDICINALES DE LA FLORA PERUANA Y GUÍA DE LA MATERNIDAD”**, menciona la

utilización del Arrayan (*Luma chequen*) se realiza mediante cocimiento de esta planta con un puñado de sal, bien hervido, es bueno para bañar a las personas tullidas y a los que padecen de reumatismo. Empleándose estos baños por unas ocho mañanas, mejoran rápidamente. Este mismo cocimiento sirve para quitar el mal olor de los pies de los que son conocidos vulgarmente como “pezuñas”, desinfectando completamente los pies, tonificando los nervios, por lo que se recomienda de manera preferente para los jóvenes deportistas. (23)

MANTILLA HOLGUÍN, Justo y OLAZÁBAL CASTILLO (2004) Oscar en el libro “**PLANTAS MEDICINALES DE NUESTRA MADRE TIERRA**”, cita el uso de Arrayan (*Luma Chequen*); Dolor de cabeza, lavarse la cabeza con el agua en donde las ramas hirvieron, Dolor de estómago, las yemas son reposadas para luego tomar en mate al momento, Soq’a juntamente con hojas de “molle” y “markhu” hervirlo y bañarle a las personas los días martes y viernes, expectorante y astringente, la infusión de las hojas se toman, Tos se toma el mate de las hojas., Gripe se toma las hojas reposadas, reumatismo en baños durante ocho días, mal aliento enjuague o gárgaras con el que se hirvió las hojas.(7)

2.2.2 ESPECIE VEGETAL *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. “YURAQ MUÑA”

Nombre Científico:

Minthostachys spicata (Benth). Epling.

Clasificación taxonómica

División	: <i>Magnoliophyta</i>
Clase	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclase	: <i>Asteridae</i>
Super orden	: <i>Asteranae</i>
Orden	: <i>Lamiales</i>
Familia	: <i>Lamiaceae</i>
Género	: <i>Minthostachys</i>
Especie	: <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling

Sinonimias

Bystropogon, glabrescens Beth, Bystropon spicatus Benth.

Nombres comunes:

"muña", "rap'i muña", "qeshua muña", "yuraq muña", "papa kuru muña".

Fuente: Herbario Vargas (CUZ-UNSAAC) (Anexo N° 01)

2.2.2.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

GRAFICO N°:2.2.

Minthostachys spicata (Benth). Epling.



Arbusto de *Minthostachys spicata (Benth). Epling.*

Fuente: Elaboración Propia.

Es un arbusto muy aromático, pubescente, de 0,50 a 1,50 m de altura que crece en forma de mata. Hojas aovadas, de base por lo general redondeada, de 2-3 cm de largo por 1-2 cm de ancho, bordes aserrados, raro enteros y revolutos, con pecíolos de 5-10 mm. Flores en las axilas de las hojas en cimas de 4 inflorescencias por nudo, con pedúnculos cortos de hasta 10 mm de largo, con 10-20 flores cada uno; cáliz de más o menos 2 mm de largo, corola de color blanco, tubo de más o menos 3 mm de largo. Florece en verano. (25)

2.2.2.2 USOS DE LA ESPECIE

UNIVERSIDAD DE LIMA- FERNADEZ VELAZQUEZ, Bernardo (1994), en el libro “**CATALOGO DE PLANTAS MEDICINALES**” menciona la utilización de muña (*Mintostachys mollis*), la utilización del aceite esencial de la muña muestra un efecto inhibitorio sobre los microorganismos estudiados, siendo *Shigella dysenterial* la especie más sensible, la partes utilizadas es casi toda la planta para extracción de aceite esencial. (9)

El reconocimiento de la especie botánica de *Minthostachys mollis* “Yuraq muña” se encuentra en el ANEXO 01.

2.2.3 ACEITE ESENCIAL

Son desechos del metabolismo de las plantas. Comprende las esencias vegetales y las resinas. Se presentan en emulsiones que tienden a formar gotitas. A medida la planta lo vierte al exterior, por medio de los canales excretores. Las esencias vegetales, que son volátiles, se difunden a través de la epidermis de la hoja y de las flores; expande a menudo un olor muy pronunciado y son los compuestos que dan perfume a los vegetales.

Las esencias son compuestos terpénicos y los terpenos están formados por largas cadenas de un hidrocarburo dietilénico, el isopreno. Como los isoprenos pueden unirse entre sí de muchas formas, el número de esencias es muy alto. Las resinas normalmente están disueltas en esencias y aparecen como residuos viscosos o sólidos cuando aquellos se evaporan. (26)

CONSERVACIÓN

Los aceites esenciales siempre deben de estar protegidos de la luz y mantenerse en las botellas de vidrio, de preferencia botellas de color azul, ya que este color es específico para los aceites esenciales. (27)

2.2.3.1 EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

Destilación de los aceites esenciales, es el proceso que consiste en extraer los aceites esenciales de las plantas aromáticas mediante el sistema muy sencillo y de bajo costo que se denomina destilación por “arrastre de vapor”. (7)

2.2.3.1.1 MÉTODO DE DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR

Este método aprovecha la propiedad que tiene las moléculas de agua en estado de vapor de asociarse con moléculas de aceite. El equipo es muy sencillo requiere de: un generador de vapor, un reactor o cámara de extracción que es un recipiente hermético con una entrada y salida de vapor donde se deposita el material de las plantas (hojas, flores, madera, semillas), un condensador donde el vapor se transforma nuevamente líquido y se recoge en un recipiente llamado vaso florentino que es un envase con desprendimiento que facilita la separación del agua y el aceite. La extracción se efectúa cuando el vapor por presión entra en contacto con células de las plantas y las rompe liberando la esencia y atrapándola en las gotitas de agua del vapor que luego se condensa en el destilador, el aceite obtenido por medio de este procedimiento es de alta pureza y solo requiere una redestilación para acabar de eliminar algunas gotas de agua que puedan quedar atrapadas en el aceite. (28)

2.2.4 CAVIDAD BUCAL

Es un compartimiento tapizado en su totalidad por una mucosa, consta de un orificio anterior o hendidura bucal, limitado por los labios, y un orificio posterior o Istmo de las fauces que le comunica con la faringe, el istmo de las fauces está delimitado en la pared superior por una prominencia redondeada central (úvula o campanilla), de la que parten a ambos lados unos resaltantes arqueados, o pilares del velo del paladar. La pared inferior del istmo la forma la base de la lengua. El techo de la cavidad oral está formado por el paladar; una porción anterior o el paladar duro y uno posterior móvil llamado paladar blando o velo del paladar. En el suelo de la boca destaca la lengua, en la cara superior se encuentran las papilas gustativas, en la parte inferior se encuentran el frenillos ambos lados se encuentran pequeños salientes o carúnculas sublinguales. En la parte anterior se encuentran los dientes. (29)

MORFOLOGÍA FISIOLÓGICA BUCAL

Los dientes están encajonados en las encías, formadas por tejido óseo alveolar, tejido conjuntivo y ligamentos: La pulpa, La dentina o Marfil, el cemento, el esmalte, el recubrimiento gingival y el cuello. (30)

2.2.5 PATOLOGÍA BUCAL

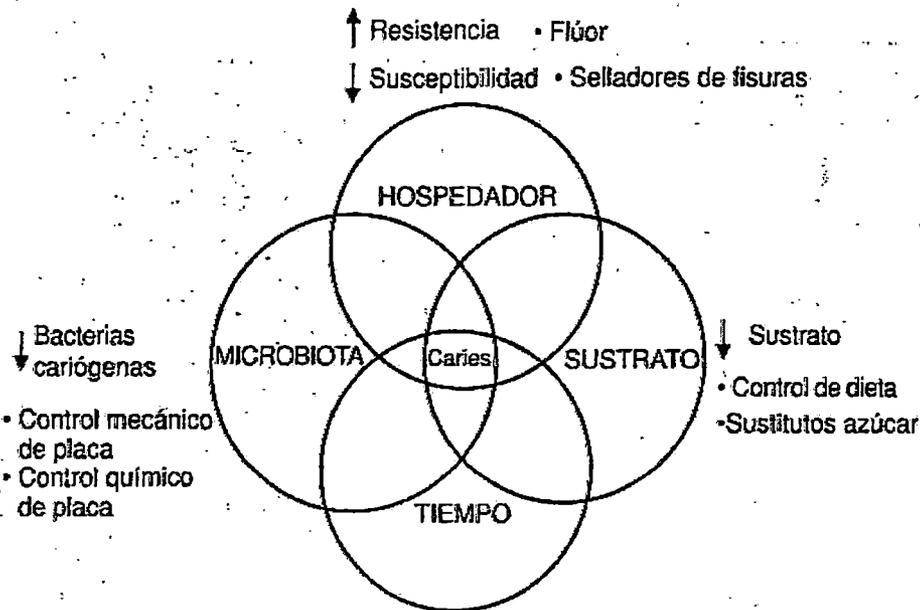
2.2.5.1 CARIES DENTAL

Puede desarrollarse muy pronto incluso en dientes de leche, es la destrucción de partes duras del diente, en particular del esmalte pero también de la dentina, por los ácidos formados a partir de los azúcares. Los azúcares se degradan por acción de los microorganismos presentes en la cavidad Bucal. Algunas caries superan muy rápidamente las etapas de destrucción del diente. Otras evolucionan muy lentamente. (30)

ETIOLOGIA DE CARIES

Un esquema clásico, vigente en la actualidad, para explicar como se instaura la enfermedad es la trilogía etiológica de Keyes modificada por Nwbrum. Según esta, para que se desarrolle son necesarios tres factores de mantenidos en el tiempo: un hospedador susceptible, una microbiota cariogénica o cariogénica localizada en la placa bacteriana y un sustrato adecuado, suministrado por la dieta y que sirve de fuente de energía a los microorganismos. (31)

A continuación se muestra el Esquema de Keyes modificado. Factores etiológicos de la caries y medidas preventivas que afecten a cada uno de los factores.



Fuente: NEGRONI, Marta, MICROBIOLOGIA ESTOMATOLOGICA (2001)

DETERMINANTES BACTERIANOS CARIOGÉNEICIDAD

De las bacterias que forman parte de la microbiota de la placa bacteriana, es importante seleccionar los determinantes de virulencia y cariogeneidad de los microorganismos más implicados en el inicio y desarrollo de caries; *Streptococcus* del grupo *mutans*, *Lactobacilos spp.* y *Actinomyces spp.* Tres son más importantes de las bacterias cariogénicas:

- Capacidad de transportar azúcares en competición con otros microorganismos de la placa.
- Capacidad de convertir rápidamente estos azúcares en ácidos
- Capacidad de mantener estas funciones en condiciones ambientales extremas, tales como un pH bajo. (32)

2.2.5.2 HALITOSIS

También llamada mal aliento, se define como el conjunto de olores desagradables u ofensivos que emanan de la cavidad bucal. Como consecuencia, los individuos que la padecen pueden sufrir situaciones de incomodidad y de malestar psicosocial. (33)

Aunque se ha descrito una serie de causas extra orales (alteraciones del tracto respiratorio superior e inferior, algunas enfermedades sistémicas, alteraciones

metabólicas, medicaciones y carcinomas), en aproximadamente el 90% de los casos de halitosis tienen su origen en causas intraorales. (33)

2.2.5.2.1 CLASIFICACION DE LA HALITOSIS

Esta clasificación de halitosis incluye tres categorías: halitosis genuina o verdadera, pseudo halitosis y halitofobia. La halitosis genuina se subdivide a su vez en halitosis fisiológica y patológica (Oral o extra oral). Sino existe mal olor bucal pero el paciente cree que tiene estaremos hablando de una pseudo halitosis. Si después del tratamiento de una halitosis verdadera o pseudo halitosis el paciente cree que todavía tiene halitosis, estaremos diagnosticando una halitofobia, se observa la clasificación de la halitosis y sus necesidades de tratamiento en el Cuadro N°:2.1

Esta clasificación por tanto, permite al clínico diagnosticar una condición psicológica. Como se ha descrito anteriormente, se requiere de un tratamiento de cada categoría, observando ser las necesidades de tratamiento en el Cuadro N°: 2.2 (33)

**CUADRO N°: 2.1
CLASIFICACIÓN DE LA HALITOSIS.**

I. Halitosis genuina: Se percibe de manera obvia mal olor bucal por encima de los niveles socialmente aceptables. A. Halitosis Fisiológica: Salud oral, el origen del problema se encuentra en la región dorso posterior de la lengua. Hay que descartar halitosis transitoria debida a factores alimentarios (p. ej., ajo, cebolla,..)	TN-1
B. Halitosis patológica: I) Oral: Origen en la región dorso –posterior de la lengua, a la que se suman condiciones patológicas de la cavidad bucal (gingivitis, periodontitis...)	TN-1 + TN-2
II) Extraoral: Origen en desordenes sistémicos, tracto respiratorio superior/inferior, enfermedades hepáticas, renales, etc.	TN-1 + TN-3
II. PSEUDOHALITOSIS: El paciente se queja de halitosis no objetivable	TN-1 + TN4
III. HALITOFOBIA: Queja persistente de halitosis no objetivable	TN-1 + TN-5

Fuente: FUENMAYOR FERNÁNDEZ, Vicente "MANUAL DE HIGIENE BUCAL" (2009)

Leyenda: TN-1= Necesidad de Tratamiento Halitosis Tipo I, TN-2= Necesidad Tratamiento halitosis Tipo II, TN-3= Necesidad Tratamiento halitosis Tipo III, TN-4= Necesidad Tratamiento halitosis Tipo IV TN-5= Necesidad Tratamiento halitosis Tipo V.

CUADRO N°: 2.2
NECESIDADES DE TRATAMIENTO

TN-1	Incluye la explicación de las causas y evolución de la halitosis y se realiza una profilaxis profesional. Posteriormente se incluye al paciente en técnicas de higiene bucal incluyendo técnicas de limpieza lingual, cepillado, limpieza interproximal y uso de colutorios y dentífricos específicos. Por último, se programan revisiones dentales periódicas.
TN-2	Se realizan un profilaxis/ raspado según las necesidades individuales. Se realizan los tratamientos necesarios de las afecciones bucales y principalmente de las enfermedades periodontales.
TN-3	Se refiere al paciente a un médico o especialista.
TN-4	Se explican los datos obtenidos en el examen del paciente, se provee al paciente de más instrucciones profesionales y educación para que el paciente entienda que no presenta halitosis objetivable.
TN-5	Se refiere al paciente a un psicólogo clínico, psiquiatra u otro especialista de la psicología.

Fuente: FUENMAYOR FERNÁNDEZ, Vicente "MANUAL DE HIGIENE BUCAL" (2009)

Leyenda: TN-1= Necesidad de Tratamiento Halitosis Tipo I, TN-2= Necesidad Tratamiento halitosis Tipo II, TN-3= Necesidad Tratamiento halitosis Tipo III, TN-4= Necesidad Tratamiento halitosis Tipo IV TN-5= Necesidad Tratamiento halitosis Tipo V.

ETIOPATOGENIA DE LA HALITOSIS ORAL

Los principales responsables de la aparición de la halitosis son los compuestos sulfurados volátiles. Principalmente el sulfuro de hidrógeno (H₂S), el metil mercaptano (CH₃SH) y el di metil sulfuro (CH₃)₂S. Su formación tiene lugar en diferentes localizaciones orales. Aunque los compuestos sulfurados volátiles representan el 90% de los componentes malolientes que contribuyen al mal aliento, se han identificado otros componentes que contribuyen en menor medida; estos son productos que no contienen sulfuro, tales como: compuestos aromáticos volátiles (indol y escatol), ácidos orgánicos (acético, propiónico) y aminas (cadaverina y putrecina). (33)

Los compuestos sulfurados volátiles son producidos a través de las actividades de putrefactivas de las bacterias presentes en la superficie de la lengua, el surco gingival, la saliva y otras áreas. Los sustratos son aminoácidos que contienen sulfuro como la cisteína la cistina y la metionina que se encuentran

libres en la saliva, el fluido crevicular o que se producen como resultado de la proteólisis de sustratos proteicos. Las principales fuentes de estos sustratos son células epiteliales descamadas procedentes de diferentes localizaciones de la cavidad bucal, leucocitos que se difunden en localizaciones con cierto grado de inflamación y, en menor medida, nutrientes aportados por la dieta. (33)

2.2.6 PLACA DENTAL

Placa dental biofilm oral o placa bacteriana es una acumulación heterogénea de una comunidad microbiana variada, aerobia y anaerobia, rodeada por una matriz intercelular de polímeros de origen salival y microbiano. Estos microorganismos pueden adherirse o depositarse sobre las paredes de las piezas dentarias. Su presencia puede estar asociada a la salud, pero si los microorganismos consiguen los sustratos necesarios para sobrevivir y persisten mucho tiempo sobre la superficie dental, pueden organizarse y causar caries, gingivitis o enfermedad periodontal (enfermedades de las encías). (34)

FORMACION DE SARRO

Es rápida en treinta y seis horas aparecen formas filamentosas de bacterias y una precipitación de fosfato de calcio favorecida por el pH alcalino y saliva. El sarro es amarillo; retiene colorantes, nicotina, alquitrán, etc. Es muy duro y difícil de eliminar, principalmente si es sublingual a nivel de la encía libre. Es causa de gingivitis y de piorrea dental. (30)

2.2.7 MICROBIOLOGIA ODONTOLÓGICA

2.2.7.1 GÉNEROS Y ESPECIES MICROBIANAS PRESENTES EN LA CAVIDAD BUCAL

Bacterias Gram positivas

Cocos anaerobios facultativos

Streptococcus

Son cocos gran positivos agrupados en pares o cadenas, no esporulados e inmóviles que presentan un metabolismo fermentativo y son anaerobios facultativos con requerimientos nutricionales complejos, constituyen el grupo más numeroso en la cavidad bucal; en los cultivos presentan de 20 al 30% del

total de las bacterias. Los *Streptococcus*, que también se encuentran en el tracto respiratorio de los hombres y animales, clásicamente han sido en tres subgrupos mayores sobre las bases de su desarrollo en el agar sangre:

- Alfa hemolíticos: Producen hemólisis parcial; da un área verde alrededor de las colonias bacterianas en el medio de cultivo.
- Beta hemolítico: Producen hemólisis total; originan una zona clara alrededor de las colonias en el medio de cultivo.
- Gamma hemolíticos: No producen hemólisis.(31)

La mayoría de los *Streptococcus* de la cavidad bucal son considerados alfa hemolíticos: *Streptococcus salivarius* y *Streptococcus* del grupo *mutans*, *milleri*, *mitis* y *sanguis*. *Streptococcus faecalis* considerado como *Enterococcus faecalis*, es considerado no hemolítico. Los *Streptococcus* betas hemolíticos más comunes, *Streptococcus pyogenes*, no se consideran miembros de la biota normal de la cavidad bucal.

Streptococcus del grupo *mutans*

Estas especies han sido descritas por Clarke en 1924, a partir de la caries de dentina. Su primer hábitad es la superficie dentaria del hombre, pero también puede ser identificados en fauces. Su presencia en la placa bacteriana se ve favorecida por el alto nivel de sacarosa de la dieta. (31)

En la etiología de la caries dental ha sido demostrada por la producción de lesiones cariosas después de su introducción en la cavidad bucal de animales libres de gérmenes.

Los estudios epidemiológicos han demostrado una relación directa entre el número de *Streptococcus mutans* y la presencia de caries dental. En la actualidad, esta relación se usa para predecir caries dental. En la actualidad, esta relación se usa para predecir caries dental a partir de *Streptococcus mutans* recuperados de la saliva. Los recuentos bacterianos altos, como 1×10^6 UFC por mililitro de saliva, indican un alto riesgo de caries dental.

Los *Streptococcus* del grupo *mutans* son genéticas heterogéneos y pueden ser subdivididos en distintos tipos. Esto ha sido posible por medio de las estructuras antigénicas que permiten reconocer 8 serotipos designados por letras que van de a a la h. (31)

Streptococcus mutans puede ser asimilado con los serotipos c, e y f mientras los restantes han sido ubicados en las siguientes especies:

Streptococcus cricetus (serotipo a)

Streptococcus sobrinus (serotipo b)

Streptococcus ferus (serotipo c)

Streptococcus macacae (serotipo h)

Streptococcus downei (serotipo h)

Debido a la habilidad de *S. mutans* para producir caries dentales en animales libres de gérmenes (gnotobióticos) se lo describe como *S. mutans* "cariogénico"; esto se relaciona con su capacidad de producir ácido láctico al metabolizar la sacarosa. *S. mutans* puede sintetizar polímeros extracelulares solubles (dextranos, fructanos) en insolubles (mutanos) a partir de la sacarosa. Los polímeros insolubles desempeñan un papel fundamental en la adhesión de *S. mutans* a la superficie dentaria. Por este motivo no se lo aísla de la cavidad bucal antes de la erupción de los dientes temporarios.

Géneros y especies microbianas en la cavidad bucal. (31)

2.2.7.1.1 *Streptococcus mutans*

CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino	:Bacteria
Filo	:Firmicutes
Clase	:Bacilli
Orden	:Lactobacillales
Familia	:Streptococcaceae
Género	:Streptococcus
Especie	: <i>S. mutans</i>
Nombre binomial	: <i>S. mutans</i> Clarke 1924

(35)

La especie más frecuente del grupo. Se aísla en el 70- 90% de la población no desdentada y resistente a la caries (portadores). En individuos con caries activa o especialmente predispuestos su cantidad aumenta significativamente. Se considera el microorganismo cariogénico por excelencia. Por su especial capacidad de colonizar superficies duras se aíslan en la cavidad oral, sobre todo

a partir de las placas supragingivales, radiculares y saliva, en cuyo caso su origen es secundario a la colonización en las placas. Igualmente, su papel es importante en las endocarditis subagudas, representando entre el 7-14% de todas las originadas por los estreptococos.

Sus colonias en agar sangre son α y γ -hemolíticas, y excepcionalmente, β -hemolíticas. En su estructura antigénica hay que destacar que posee los polisacáridos parietales c, e y f y proteínas asociadas a la muerina conocida como antígeno I/II (o también como B, P1 o Pac). Estas proteínas u otras similares participan en procesos adhesivos:

a) Como adhesinas interactuando con receptores de la película adherida, tales como proteínas ricas en prolina.

b) Como glucosiltransferasas y receptoras de glucanos en fenómenos agregativos y coagregativos entre bacterias que colonizan los dientes. Estos antígenos (polisacáridos, proteínas y glucosiltransferasas) se han usado con desiguales resultados para preparar vacunas anticaries.

La relación de *S. mutans*-caries se fundamenta en las siguientes características: incremento cuantitativo en sujetos predispuestos o con caries activa; capacidad de inducción de la enfermedad en animales de experimentación y protección de los mismos cuando estén inmunizados frente a antígenos del microorganismo y los factores de virulencia relacionados con dichos procesos. Entre estos últimos destacan los factores de cariogeneicidad: (31)

a) Síntesis de polisacáridos intracelulares.

b) Síntesis de polisacáridos extracelulares de tipo glucanos insolubles y solubles y fructanos (posee GTF-I, GTF-S y FTF)

c) Movilización de polisacáridos intracelulares por glucógeno fosforilasa y extracelulares solubles por dextranasas y fructanasas.

d) Poder acidógeno, acidófilo y ácido úrico, inicio de crecimiento a pH 5 y corto efecto post pH.

e) Importante capacidad adhesiva por las proteínas parietales, que posibilitan su adhesión a superficies duras en ausencia de glucanos, y agregativas y coagregativa a través de mutanos, glucosiltransferasas y proteínas receptoras de glucanos (el papel de los ácidos lipoteicoicos y fibrinas en estos procesos parece ser poco importante)

- f) Producción de bacteriocinas con actividad sobre otras bacterias grampositivas que podrían tener una significancia ecológica, aunque no está demostrada in vivo su importancia como factor selectivo de la microbiota. (31)

Las imágenes de *Streptococcus mutans* llevado al microscopio se ven en el Anexo N° 05.

2.2.7.2 DISTRIBUCIÓN DE MICROORGANISMOS EN LA CAVIDAD BUCAL

Distribución aproximada de microorganismos en la cavidad oral, el cual se observa en el cuadro N°: 2.3.

CUADRO N°: 2.3
PORCENTAJE DE DISTRIBUCION DE MICROORGANISMOS EN LA CAVIDAD BUCAL

Áreas (%)					
Microorganismos	1	2	3	4	5
1.Cocos	97	67	50	67	65
1.1. Grampositivos anaerobios facultativos	95	45	37	50	44
1.2. Gramnegativos preferentemente aerobios	<1	2	2	<1	3
1.3. Grampositivos anaerobios estrictos	<1	4	<1	4	3
1.4. Gramnegativos anaerobios estrictos	1,5	16	12	13	15
2.Bacilos	<4	33	48	32	35
2.1. Grampositivos anaerobios facultativos	<1	12	40	18	15
2.2. Grampositivos preferentemente aerobios	<1	2	<1	<1	2
2.3. Grampositivos anaerobios estrictos	<1	6	<1	3	7
2.4. Gramnegativos anaerobios facultativos	<1	5	3	6	4
2.5. Gramnegativos anaerobios estrictos	<1	8	3	5	7
3.Treponemas	-	<1	1	1	-

FUENTE: José LIEBÉMAN UREÑA "MICROBIOLOGÍA ORAL (2002).

Leyenda: 1. Mucosa Oral 2. Dorso de la lengua 3. Placa supragingival madura 4. Surco gingival en estadio de salud periodontal 5. Saliva.

2.2.8 EL CEPARIO

Es una variante fenotípica de una especie o, incluso, de un taxón inferior, usualmente propagada clonalmente, debido al interés en la conservación de sus cualidades definitorias. De una manera más básica puede definirse como un conjunto de especies bacterianas que comparten, al menos, una característica. Existen sociedades científicas, las colecciones de cultivos tipo, que almacenan una gran diversidad de microorganismos y que los difunden a petición de los investigadores; en dichas colecciones, la atribución taxonómica de cada clon está perfectamente asegurada hasta el nivel de cepa. (36)

ATCC

(American Type Culture Collection) Son colecciones de cultivo de referencia, donde se depositan cepas de referencia con la descripción detallada de las características genéticas, bioquímicas y morfológicas del microorganismo, y la designación de un cultivo vivo como "cepa de referencia". (37)

2.2.9 CRECIMIENTO BACTERIANO

Se hace referencia al incremento del número de células y no al tamaño. Al dividirse la mayoría de las bacterias por fisión binaria, cada célula origina dos, dos originan cuatro, cuatro originan ocho, etc.; el crecimiento bacteriano es una función exponencial, se debe tener en cuenta:

- **Tiempo de generación**, tiempo necesario para que una población bacterias se duplique.

- **Células viables**, es decir aquella que es capaz de dividirse también hay células incapaces de hacerlo.

- **Tasa o velocidad de crecimiento específico**, es el aumento proporcional del número de células viables a lo largo del tiempo. (32)

2.2.9.1 CURVA DE CRECIMIENTO

Si se introduce en un medio de cultivo líquido una población bacteriana (inóculo), procedente todo ella de la misma célula madre (cultivo puro), y el sistema es cerrado, es decir ni se añaden ni se eliminan sustancias de desecho, se genera una curva de crecimiento con las etapas que se indican a continuación. (32)

1. LATENCIA

Las bacterias reorganizan sus sistemas enzimáticos, existiendo una intensa actividad enzimática preparatoria de lo que ocurrirá en la siguiente fase.

2. CRECIMIENTO EXPONENCIAL O LOGARÍTMICO

Al disponer de nutrientes necesarios, el número de bacterias comienza a aumentar sensiblemente. Las bacterias alcanzan su ritmo máximo de duplicación, la actividad metabólica es intensa y la síntesis de elementos estructurales se acelera.

3. EQUILIBRIO O ESTACIONARIA

Se van agotando los nutrientes, se acumulan sustancias tóxicas, la actividad metabólica y el ritmo de división disminuyen, existiendo un equilibrio entre células viables y las que no son.

4. MUERTE O DECLIVE LOGARÍTMICO

Se incrementan las circunstancias adversas determina que el equilibrio anterior se rompa a favor de la pérdida de células viable, esta curva ideal puede modificarse según el tipo de bacteria y dependiendo para crecer exista una dependencia de varios nutrientes o esto se agoten en tiempos distintos. (32)

2.2.10 EFECTO ANTIBACTERIANO

2.2.10.1 MEDICION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

VALORACION DE LA ACTIVIDAD IN VITRO

Para establecer el tratamiento de la mayoría de las enfermedades infecciosas resulta de gran ayuda conocer los agentes responsables de las mismas y la actividad que los antimicrobianos ejercen sobre ellos. El laboratorio de microbiología dispone de métodos que permite evaluar la actividad in vitro de los antibióticos. A continuación se expone de forma esquemática algunos de ellos. (31)

1.- DIFUSIÓN EN AGAR

DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE UNA BACTERIA A AGENTE MICROBIANOS: ANTIBIOGRAMA.

FUNDAMENTO: El antibiograma por método de difusión en agar es una prueba en la que se enfrenta la bacteria inoculada sobre la superficie de un medio de agar a una solución antibiótica absorbida en disco de papel filtro o en pastillas. Este método fue estandarizado y los halos de inhibición obtenidos, correlacionados con la CMI por Bauer y cols., en 1996. Este estudio dio lugar al método de Kirby-Bauer, que es el recomendado por la FDA (Food and Drug Administration) y el National Commite for Clinical Laboratory Standars (NCCLS), aunque con ligeras modificaciones. Varios factores afectan el halo de inhibición: La carga de antibiótico en los discos, la difusión de antibiótico en el medio de cultivo, la velocidad del crecimiento bacteriano y el tiempo de inoculación. El medio de cultivo mas frecuentemente empleado es el de Muller-Hinton, que permite el crecimiento de casi todas las bacterias. Este medio puede ser suplementado con un 5% de sangre desfibrinada de caballo, oveja u otro animal, cuando la bacteria lo requiera para su desarrollo. El pH del medio debe estar entre 7.2 y 7.4 y el grosor entre 4-6mm. Los discos de antibióticos pueden ser comprados o preparados. Deben contener la cantidad establecida de antibiótico y ser conservada a 4°C, protegidos de la humedad. El inoculó debe tener turbidez similar al 0,5 de la escala de McFarland, aproximadamente 10^8 UFC/ml y se prepara en una solución salina estéril o caldo de cultivo. La inoculación se puede efectuar con hisopo de algodón estéril. Las placas se deben incubar a 37°C en atmósfera aerobia. Se debe evitar en lo posible la incubación en presencia de CO₂, ya que modifica el medio del pH del medio y esto puede afectar la actividad

de algunos antibióticos. La lectura se debe realizar entre 18-24Horas. Este método es adecuado únicamente para bacterias patógenas de crecimiento rápido. Una incubación más prolongada puede dar lugar interpretaciones erróneas del halo de inhibición. (38)

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA Y DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA

Los métodos más utilizados para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) son los métodos de dilución. ANEXO 07.

2.- E-TEST

Es una variante del método anterior que presenta la ventaja de ser una técnica semicuantitativa. Una tira de plástico lleva incorporada cantidades definidas de antibiótico. La zona de inhibición alrededor de ella forma una elipse; el extremo en donde no hay crecimiento coincide con la CMI. (38)

3.- DILUCION EN AGAR

Se inoculan placas con concentraciones dobles progresivas de antibiótico y una testigo sin fármaco con varias cepas bacterianas. Tras la inoculación pertinente se determinará la CMI de acuerdo con los criterios ya expuestos. (38)

4.- DILUCIÓN EN CALDO

Puede hacerse en forma de macrodilución o microdilución. Se emplea un inóculo bacteriano estandarizado y diluciones dobles progresivas de antibiótico. Tras la incubación se hacen subcultivos en placas, y de esta forma se calculan la CMI y CMB en relación a un control sin fármaco. (38)

5.- ACTIVIDAD BACTERICIDA DEL SUERO (ABS)

Sirve para determinar la eficacia de un tratamiento antibiótico en procesos graves. El método es muy similar al de las macrodiluciones empleando un inóculo bacteriano estandarizado y diluciones de suero; se calcula la concentración inhibitoria y bactericida del mismo. (38)

PREPARACIÓN DEL INÓCULO

Se retira la cepa a trabajar de la refrigeradora, por lo menos 15 minutos antes de trabajar, para que este pueda estar a temperatura ambiente.

2.2.11 COLUTORIO O ENJUAGUE BUCAL

En ocasiones se denominan también "Elíxires dentífricos". Son soluciones acuosas o ligeramente alcohólicas que contienen antisépticos y glicerina. Se utiliza principalmente en aquellos sujetos que se quejan del mal aliento. Actualmente parece que los enjuagues bucales tienen acción anticaries y se utilizan después del cepillado para mantener una cierta concentración de flúor en la cavidad bucal. (30).

A continuación se observa los datos comparativos del efecto antiplaca y antigingivitis de los antimicrobianos más utilizados en el cuadro N°: 2.4

CUADRO N°: 2.4
DATOS COMPARATIVOS DEL EFECTO ANTIPLACA Y ANTIGINGIVITIS DE
LOS ANTIMICROBIANOS MÁS UTILIZADOS.

Agente químico	Porcentaje de reducción de índice de la placa bacteriana	Porcentaje de reducción de gingivitis
Clorhexidina	52-60	42-48
Fluoruro de estaño	38-46	45-50
Delmopinol	42-52	35-42
Saliflúor	35-45	30-40
Sanguinaria	24-30	30-34
Triclosán	24-30	32-46
Acites esenciales	20-26	25-30
Cloruro de cetilpiridinio	14-18	20-24

FUENTE: CUENCAS SALA *Emili* y otros "ODONTOLOGIA PREVENTIVA Y COMUNITARIA" (2005)

2.2.11.1 FORMULACION DE COLUTORIO

Son soluciones acuosas de cierta viscosidad que contienen sustancias destinadas a tratar alguna afección a nivel de la cavidad bucal. Sólo en situaciones excepcionales se formulan como suspensiones o como preparaciones extemporáneas. Suelen llevar codisolventes como la glicerina, el sorbitol, el alcohol y tensoactivos que faciliten la solubilización de los componentes de la formulación. (40)

La viscosidad se consigue con gelificantes naturales o de síntesis, que hacen que la formulación quede adherida el mayor tiempo posible a la zona de aplicación. Los edulcorantes deben ser no cariogénicos, dada la proximidad de la dentadura y el pH final ha de estar próximo a la neutralidad debido a que la acidez deteriora el esmalte dental y la alcalinidad daña los tejidos gingivales. (40)

Los siguientes Cuadros N°: 2.5 y 2.6 recogen la composición del colutorio de nistatina y de clorhidrato de lidocaína.

CUADRO N°: 2.5

COLUTORIO DE NISTATINA (PREPARACIÓN EXTEMPORÁNEA)

Nistatina	500 000 UI
Propilenglicol	20ml

Fuente: VILA JATO, Jose luis "FORMAS FARMACÉUTICAS" Volumen II (2001)

CUADRO N°: 2.6

COLUTORIO DE CLORHIDRATO DE LIDOCAÍNA

Clorhidrato de Lidocaína	1g
Carboximetilcelulosa sódica	2g
Agua purificada c.s.p.	100g

Fuente: VILA JATO, Jose luis "FORMAS FARMACÉUTICAS" Volumen II (2001)

Se envasan en frascos pequeños (10-15 ml) cuyo tapón lleva incorporado un pincel, espátula o paleta flexible que facilita su aplicación en

enciás, mucosa bucal o garganta, y que debe ser lavado después de su utilización y antes de ser introducido nuevamente en el frasco. (40)

Se utilizan para reducir concentraciones bacterianas (antibióticos, antisépticos, quimioterápicos), para aliviar el dolor y la inflamación (anestésicos, analgésicos, antiinflamatorios), etc. (40)

Se formulará colutorios elaborado con aceites esenciales de: *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "Arrayán" y *Minthostachys spicata* (*Benth*). Epling. "Yuraq muña".

- Colutorio A: Elaborado con aceite esencial de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "Arrayán".
- Colutorio B: Elaborado con aceite esencial de *Minthostachys spicata* (*Benth*). Epling. "Yuraq muña".
- Colutorio C: Elaborado con aceite esencial de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "arrayán" y *Minthostachys spicata* (*Benth*). Epling. "Yuraq muña".
 - 50 % *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "arrayán" +
 - 50 % *Minthostachys spicata* (*Benth*). Epling. "Yuraq muña".

2.2.11.2 COLUTORIOS USADOS COMO PATRÓN

Muchos enjuagues antisépticos, son aceptados por la ADA (asociación Dental Americana) por sus beneficios terapéuticos para reducir la placa dental y la gingivitis y porque también tienen propiedades que refrescan el aliento. En vez de simplemente disimular el mal aliento, se ha demostrado que estos productos matan los gérmenes que causan el mal aliento. Quizás quiera preguntarle a su dentista sobre si debe probar algunos de estos productos. (41)

- Aceites Esenciales (Listerine)
- Cloruro de cetilpiridinio y fluoruro de sodio 0.05% (226 ppm de flúor) (Dento®)
- Triclosán al 0,03% (Colgate Plax®),

1. ACEITES ESENCIALES (LISTERINE)

DESCRIPCIÓN

Complemento de la higiene oral, ayudando a eliminar los gérmenes que causen el mal aliento, la placa y la gingivitis.

- Eliminar los gérmenes en un 99%
- Ayuda a mantener las encías saludables.
- Mantiene el aliento fresco por 24 horas (se debe usar en la mañana y en la noche)

Disponible en: 180 ml, 360 ml, 500 ml.

Indicaciones: Ayuda a reducir:

- Placa
- Gingivitis

Advertencias

- No debe usarse en niños menores de 12 años.
- No debe ingerirse.

INSTRUCCIONES DE USO

Se debe recomendar su utilización dos veces al día después del cepillado y la seda dental, enjuagando vigorosamente 20 ml (2 cucharadas) por 30 segundos.

COMPOSICIÓN

Ingredientes Activos:

Aceites Esenciales:

- Timol 0.064%
- Mentol 0.042%
- Eucaliptol 0.092%
- Salicilato de Metilo 0.060%

Alcohol Etilico no es un principio activo, está presente solo como agente diluyente de los aceites esenciales en un 28.4 %.

Ácido Benzoico

Caramelo

Poloxamer 407

Benzoato de Sodio

Agua

(42)

2. CLORURO DE CETILPIRIDINIO Y FLUORURO DE SODIO 0.05% (226 PPM DE FLÚOR) DENTO.

Dento Contenido Neto: 500ml

COMPOSICIÓN:

PRINCIPIOS ACTIVOS:

Cloruro de Cetilpiridinio 0.05%

Fluoruro de Sodio 0.05% (226 ppm de Flúor)

INGREDIENTES

- Polisorbato 20
- Sorbitol Glicerina
- Sabor menta
- Metilparabeno
- Propil parabeno
- Benzoato de Sodio
- Sacarina de sodio
- FyD N° 1 (Ci: 42090) Azul
- FyD N° 5 (Ci: 19140) Amarillo
- Mentol
- Agua

INSTRUCCIONES DE USO

Llenar la tapa hasta la mitad, enjuagar la boca de 30 a 40 segundos y desechar y utilizar al menos 2 veces al día después del cepillado.

PRECAUCIONES

No usar en niños menores de 6 años, no tragar, si observa alguna reacción desfavorable suspenda su uso y consulte a su odontólogo.

ACCIONES:

COMBATE LOS GÉRMENES

Que causan el mal aliento, la placa bacteriana y la gingivitis.

NO CONTIENE ALCOHOL

Que pueda irritar la membrana bucal o afectar la prótesis dental.

PREVIENE FORMACION DE CARIES

Protege las encías y proporciona un fresco aliento por muchas horas.

CLORURO DE CETILPIRIDINIO

Compuesto de amonio cuaternario, tiene una moderada actividad inhibitoria de biopelícula en un 35%. El cloruro de Cetilpiridonio se usa en amplia gamma de colutorios bucales antisépticos habitualmente en una concentración de 0.05%.

Se demostró que la sustentividad del cloruro de cetilpiridinio es aproximadamente de tres horas y su eficacia puede ser incrementada duplicando la frecuencia de enjuagues bucales a cuatro veces por día. Según otros autores, esto aumenta los efectos colaterales; pigmentación dentaria, lo que podría afectar el cumplimiento del tratamiento por parte del paciente e incrementar la sensación de quemazón en la mucosa bucal y lesiones ulcerosas. (31)

3. TRICLOSÁN AL 0,03% (COLGATE PLAX®),

Formulación:

Fluoruro de Sodio equivalente a 225 ppm, Triclosán 0,03% y Gantrez 0,2%.

Características Especiales

Ayuda a reducir la placa bacteriana/biofilm, controla el mal aliento y proporciona protección a dientes y encías hasta por 12 horas.

Indicaciones

Para pacientes sobre 6 años de edad.

- Para disminuir el riesgo de caries.
- Para controlar el mal aliento.

Instrucciones

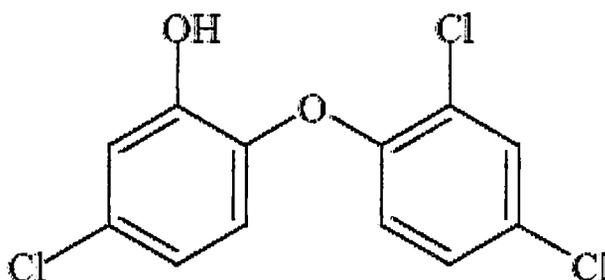
- Usar antes o después del cepillado normal de dientes, al menos 2 veces al día.
- Llenar la tapa con Colgate Plax, no adicionar agua, enjuagar la boca durante 60 segundos y después eliminar el producto de la boca. (43)

TRICLOSAN

Es un antiséptico, derivado fenólico, no iónico, soluble en lípidos y que carece de los efectos de tinción de los agentes catiónicos que fue inicialmente incorporado en las formulaciones de los dentífricos: posteriormente fue incorporado en los enjuagues como agente antimicrobiano. La escasa sustentividad de triclosán en boca puede ser aumentada mediante su combinación con copolímeros de metoxietileno y ácido maleico.

Lindhe demostró que la acción antimicrobiana del triclosán se ve reforzada por el agregado de citrato de zinc y el polímero éter-polivinil metílico del ácido maleico.

No se han observado efectos adversos importantes con esta sustancia. Su toxicidad es baja y altamente con esta sustancia. Su toxicidad es baja y es altamente liposoluble. (31)



Fuente: <http://es.wikipedia.org/wiki/Triclosan>

2.2.12 CARACTERIZACION QUÍMICA

2.2.12.1 CROMATOGRAFÍA

Es una técnica en el cual los componentes de una mezcla se separan a través de las diferencias de velocidad a la que son transportados a de una fase fija o estacionaria para una fase móvil gaseosa o líquida. (44)

CROMATOGRAFÍA DE GASES:

Son dos los tipos de cromatografía de gases, Cromatografía de Gas-Líquido (CGL) y la Cromatografía de Gas-Sólido (CGS). El primero es el más utilizado por todos los campos y es abreviado como Cromatografía de Gases (CG), en este tipo de cromatografía la fase móvil es el gas y la fase estacionaria o móvil

es un líquido retenido sobre la superficie de sólido inerte por adsorción o enlaces químicos. (44)

CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Este método describe la determinación de compuestos orgánicos volátiles en distintas matrices. Existen varias técnicas que permiten la introducción de los compuestos volátiles, en el cromatógrafo de gases acoplado a espectro de masas es el método que puede utilizarse para cuantificar la mayoría de los compuestos orgánicos volátiles con un punto de ebullición inferior a 200°C dentro de las familias compuestos de hidrocarburos, cetonas, nitrilos, acetatos, acrilatos, esters y sulfuros de bajo peso molecular. Los compuestos volátiles solubles en agua también pueden analizarse por esta técnica también pueden analizarse por esta técnica utilizando destilación azeotrópica o destilación al vacío.

Se hace el pretratamiento de la muestra de los compuestos volátiles se introducen en el cromatógrafo de gases acoplado a espectro de masas utilizando un método en función de su matriz, en el principio del método los compuestos volátiles se introducen en el cromatógrafo de gases acoplada a espectro de masas bien en la columna capilar o en una precolumna.

Las interferencias se refiere a disolventes, los reactivos, el material de vidrio, la trampa adsorbente y otras muestras procesadas pueden producir artefactos o fondos elevados, provocando una incorrecta interpretación de los cromatogramas, donde todo el material y reactivos deben estar chequeados y libres de interferencias. (45)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES BIOLÓGICOS

3.1.1 MATERIAL VEGETAL

- Parte aéreas (Hojas y tallos) de la especie *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A. Gray "Arrayan"
- Parte aéreas (Hojas y tallos) de la especie *Minthostachys spicata* (*Benth.*) Epling. "Yuraq muña".

3.1.2 MATERIAL MICROBIANO

- Cepas ATCC 25175 *Streptococcus mutans*.

3.2. PATRÓN COMPARATIVO

- Gluconato de clorhexidina
- Triclosan
- Aceites esenciales

3.3 MATERIALES E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO

3.3.1 MATERIALES DE CAMPO

- Bolsas de papel kraft.
- Bolsas de polietileno.
- Cuchillos y Tijeras de podar.
- Cuaderno de campo.
- Lapiceros.
- Etiquetas autoadhesivas.

3.3.2 MATERIALES DE LABORATORIO:

- Tubos de ensayo 5, 10 y 20 ml.
- Vasos de precipitado 100, 250 y 500 ml.
- Matraz de 250 ml y 500 ml.
- Probetas de 100, 250 y 500 ml.
- Placas Petri.
- Baguetas.
- Embudos de vidrio.
- Bureta de 100 mL.
- Refrigerante.
- Balón 1000 mL y 2000 mL.
- Pera de decantación 250 mL.
- Fiolas de 10 ml.
- Botellas de vidrio color oscuro de 10, 20 y 50 mL.
- Pipetas 1, 5 y 10 mL.
- Micropipetas.
- Pipetas Pasteur.
- Goteros.
- Piezas de metal: Soporte universal, espátula, etc.
- Papel filtro.
- Algodón.
- Asas de siembra y asa de digraski.
- Mechero Bunsen.
- Pinzas metálicas.
- Gradillas.
- Láminas cubre y portaobjetos.
- Discos de papel filtro.

- Algodón
- Papel aluminio.

3.3.3 EQUIPOS DE LABORATORIO

- Balanza Analítica Digital con sensibilidad de 0.001 g Denver Modelo XP-300
- Autoclave Automático Digital. FRAVILL. Capacidad de 50 L. Calentamiento Eléctrico
- Baño María MEMMERT Capacidad 20 L. Calentamiento Eléctrico.
- Estufa Eléctrica ACROSS Temperatura Maxima 200 °C.
- Espectrofotómetro V-630 BIO
- Centrifugadora GT119-100T
- Equipo Destilador de Agua. Modelo DES 100-40 Capacidad 4L/hora.
- Agitador Electrico Modelo 50 2000 Capaidad 1 900 rpm.
- Incubador. Modelo INE 200-800.Temperartura Maxima 250 °C

3.3.4 SOLVENTES Y REACTIVOS

- Etanol 96°, 70°, 60°, 50° y 40°.
- Agua destilada.
- Eter etílico Q.P.
- Cloroformo Q.P.
- Acetona Q.P.
- Metanol Q.P.
- Bencina Q.P.
- Hexano Q.P.
- Tween 80
- Cloruro de sodio a 9%.

3.3.5 MEDIOS DE CULTIVO

- Agar Muller Hinton.
- Caldo BHI. (Caldo: infusión Cerebro Corazón).
- Agar base sangre
- Agar Plate count.
- Caldo Muller Hinton.

3.3.6 INSUMOS

- Texapon K12
- Glicerina
- Sacarina sódica
- Sabor menta
- Sorbitol 2%

3.3.7 OTROS MATERIALES

- Mandil o Guardapolvo.
- Guantes quirúrgicos descartables.
- Barbijos.
- Gorras.
- Jeringas 1, 5 y 10ml.
- Ligador.
- Vernier digital.

3.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

3.4.1 DISEÑO METODOLÓGICO

3.4.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación es un estudio correlacional, ya que establece relación entre efecto antibacteriano in vitro de colutorio elaborado con aceites esenciales de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray “Arrayán” y *Minthostachys spicata* (*Benth.*) Epling “Yuraq muña” sobre cepas bacterianas: *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

3.4.1.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación es del tipo cuasi-experimental, debido a la limitada manipulación de las variables dependientes.

Las variables que se manipulen serán los volúmenes de los aceites esenciales presentes en los colutorios elaborados, en relación a la actividad antibacteriana que demuestren frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

3.4.2.1 DISEÑO DE PRUEBA ANTIBACTERIANA DE ACEITES ESENCIALES.

Diseño de prueba post prueba y grupo control.

Aceite esencial de Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán"

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 ₄	X ₄	O ₄
G ₅	X ₅	O ₅
G ₆	X ₆	O ₆
G ₇	X ₇	O ₇
G ₈	X ₈	O ₈
G ₉	X ₉	O ₉
G ₁₀	X ₁₀	O ₁₀
G ₁₁	X ₁₁	O ₁₁
G ₁₂	X ₁₂	O ₁₂
G ₁₃	X ₁₃	O ₁₃
G ₁₄	X ₁₄	O ₁₄
G ₁₅	X ₁₅	O ₁₅

Dónde:

- G₁, G₂, G₃,... G₁₅, G₁₆, G₁₇ : Cepas estándar de *Streptococcus mutans* ATCC 5175.

- $X_1, X_2, X_3, \dots, X_{15}$: Son las diferentes concentraciones de Aceite esencial de *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán"*
- $O_1, O_2, O_3, \dots, O_{15}$: Observación y medición de los halos de inhibición que se observaron.

Aceite esencial de Minthostachys spicata (Benth.) Epling "Yuraq muña"

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 ₄	X ₄	O ₄
G ₅	X ₅	O ₅
G ₆	X ₆	O ₆
G ₇	X ₇	O ₇
G ₈	X ₈	O ₈
G ₉	X ₉	O ₉
G ₁₀	X ₁₀	O ₁₀
G ₁₁	X ₁₁	O ₁₁
G ₁₂	X ₁₂	O ₁₂
G ₁₃	X ₁₃	O ₁₃
G ₁₄	X ₁₄	O ₁₄
G ₁₅	X ₁₅	O ₁₅

Dónde:

- G₁, G₂, G₃,... G₁₅, G₁₆, G₁₇ : Cepas estándar de *Streptococcus mutans* ATCC 5175.
- $X_1, X_2, X_3, \dots, X_{15}$: Son las diferentes concentraciones de Aceite esencial de *Minthostachys spicata (Benth.) Epling "Yuraq muña"*
- $O_1, O_2, O_3, \dots, O_{15}$: Observación y medición de los halos de inhibición que se observaron.

3.4.2.2 DISEÑO DE PRUEBA ANTIBACTERIANA DE COLUTORIOS ELABORADOS CON ACEITES ESENCIALES.

Diseño de prueba post prueba y grupo control.

Colutorios elaborados con aceites esenciales

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 ₄	X ₄	O ₄
G ₅	X ₅	O ₅
G ₆	X ₆	O ₆
G ₇	—	O ₇

Dónde:

G₁, G₂, G₃, G₄, G₅, G₆, G₇: Cepas estándar de *Streptococcus mutans* ATCC 5175.

X₁ : Colutorio elaborado con aceite esencial de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "Arrayán".

X₂ : Colutorio elaborado con aceite esencial Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (*Benth.*) Epling "Yuraq muña".

X₃: Colutorio elaborado con aceite esencial 50% Aceite esencial de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "Arrayán" + 50% Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (*Benth.*) Epling "Yuraq muña".

X₄: Colutorio con principios activos de aceites esenciales (Listerine)

X₅: Colutorio con principio activo de cloruro de cetilpiridinio y fluoruro de sodio 0.05% (226 ppm de flúor) (Dento®)

X₆: Colutorio con principio activo de triclosán al 0,03% (Colgate Plax®)

- : Ausencia de estímulo: Administración de agua destilada.

O₁, O₂, O₃,... O₇ : Observación y medición de los halos de inhibición que se observaron.

O₄, O₅, O₆: Observación y medición de los halos de inhibición representada por el grupo de colutorio patrón.

O₇: Observación y medición de los halos de inhibición representada por el grupo control.

3.5 DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

3.5.1 VARIABLES IMPLICADAS

3.5.1.1 VARIABLES INDEPENDIENTES

A) Aceite esencial de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "Arrayan".

Definición conceptual:

Es la cantidad de aceite esencial extraído por destilación por arrastre de vapor que se expone para determinar la actividad antibacteriana. Se expresa corrientemente en mililitros (47)

Definición operacional:

- **Naturaleza** : Cuantitativa
- **Medición** : Directa
- **Escala** : Razón
- **Instrumento de medición** : Probeta calibrada
- **Procedimiento de medición**: Se procedió a medir el volumen del aceite esencial en (ml) de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "Arrayan" obtenidos después de la destilación por arrastre de vapor.
- **Indicadores** : Cantidad de aceite esencial.
- **Expresión final** : Mililitros (ml)

B) Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (*Benth.*) Epling "Yuraq muña".

Definición conceptual:

Cantidad de aceite esencial extraído por destilación por arrastre de vapor que podría tener actividad antibacteriana. (47)

Definición operacional:

- **Naturaleza** : Cuantitativa
- **Medición** : Directa
- **Escala** : Razón o proporción

- **Instrumento de medición** :Micropipeta
- **Procedimiento de medición:** Se procedió a medir el volumen del aceite esencial en (ml) de *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* “Yuraq muña” obtenidos después de la destilación por arrastre de vapor.
- **Indicadores** : Cantidad de aceite esencial.
- **Expresión final** : Mililitros (ml)

C) Concentración de aceite esencial de *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* “Arrayan” en los colutorios elaborados.

Definición conceptual:

Cantidad de aceite esencial que se requiere para que cumpla la acción farmacológica adecuada. (40)

Definición operacional:

- **Naturaleza** :Cuantitativa
- **Medición** :Directa
- **Escala** :Razón o proporción
- **Instrumento de medición** :Micropipeta
- **Procedimiento de medición:** Se procedió a medir el volumen del aceite esencial en (ml) luego se incluyó a diferentes concentraciones en la formulación y elaboración de colutorios.
- **Indicadores** : Porcentaje
- **Expresión final** : P/P Porcentaje (%) miligramos (ul.)

D) Concentración de aceite esencial de *Minthostachys spicata (Benth.) Epling* “Yuraq muña”. en los colutorios elaborados.

Definición conceptual:

Cantidad de aceite esencial que se requiere para que cumpla la acción farmacológica adecuada. (40)

Definición operacional:

- **Naturaleza** :Cuantitativa
- **Medición** :Directa
- **Escala** :Razón o proporción
- **Instrumento de medición** :Micropipeta

- **Procedimiento de medición:** Se procedió a medir el volumen del aceite esencial en (ml) luego se incluyó a diferentes concentraciones en la formulación y elaboración de colutorios.
- **Indicadores** : Porcentaje
- **Expresión final** : P/P Porcentaje (%) miligramos (ul.)

3.5.1.2 VARIABLES DEPENDIENTES

A) Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) *A.Gray* "Arrayan" sobre la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Definición conceptual:

Es la capacidad inherente de una sustancia de origen sintético o natural que tiene capacidad de inhibir el crecimiento o matar a las bacterias. (47)

Definición operacional:

- **Naturaleza** : Cuantitativa
- **Medición** : Directa
- **Escala** : Razón o proporción
- **Instrumento de medición** : Vernier
- **Procedimiento de medición:** Se mide los halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por las diferentes concentraciones de aceite esencial usando el vernier.
- **Indicadores** : Diámetro de halos de inhibición del crecimiento bacteriano.
- **Expresión final** : Milímetros (mm)

B) Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (*Benth.*) *Epling* "Yuraq muña" sobre la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Definición conceptual:

Es la capacidad inherente de una sustancia de origen sintético o natural que tiene capacidad de inhibir el crecimiento o matar a las bacterias. (47)

Definición operacional:

- **Naturaleza** :Cuantitativa
- **Medición** :Directa
- **Escala** :Razón o proporción
- **Instrumento de medición** :Vernier
- **Procedimiento de medición:** Se mide los halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por las diferentes concentraciones de aceite esencial usando el vernier.
- **Indicadores** : Diámetro de halos de inhibición del crecimiento bacteriano.
- **Expresión final** : Milímetros (mm)

C) Actividad antibacteriana de colutorio elaborado a base de aceite esencial de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "Arrayan" sobre la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Definición conceptual:

Es la capacidad inherente de una sustancia de origen sintético o natural que tiene capacidad de inhibir el crecimiento o matar a las bacterias. (47)

Definición operacional:

- **Naturaleza** :Cuantitativa
- **Medición** :Directa
- **Escala** :Razón o proporción
- **Instrumento de medición** :Vernier
- **Procedimiento de medición:** Se mide los halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por las diferentes concentraciones de aceite esencial usando el vernier.
- **Indicadores** : Diámetro de halos de inhibición del crecimiento bacteriano.
- **Expresión final** : Milímetros (mm)

D) Actividad antibacteriana de colutorio elaborado a base de aceite esencial de *Minthostachys spicata* (*Benth.*) Epling "Yuraq muña" sobre la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Definición conceptual:

Es la capacidad inherente de una sustancia de origen sintético o natural que tiene capacidad de inhibir el crecimiento o matar a las bacterias. (47)

Definición operacional:

- **Naturaleza** :Cuantitativa
- **Medición** :Directa
- **Escala** :Razón o proporción
- **Instrumento de medición** :Vernier
- **Procedimiento de medición:** Se mide los halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por las diferentes concentraciones de aceite esencial usando el vernier.
- **Indicadores** : Diámetro de halos de inhibición del crecimiento bacteriano.
- **Expresión final** : Milímetros (mm)

E) Actividad antibacteriana de colutorio elaborado a base de aceites esenciales de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "Arrayan**" Y *Minthostachys spicata* (*Benth.*) *Epling* "**Yuraq muña**" sobre la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**

Definición conceptual:

Es la capacidad inherente de una sustancia de origen sintético o natural que tiene capacidad de inhibir el crecimiento o matar a las bacterias. (47)

Definición operacional:

- **Naturaleza** :Cuantitativa
- **Medición** :Directa
- **Escala** :Razón o proporción
- **Instrumento de medición** :Vernier
- **Procedimiento de medición:** Se mide los halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por las diferentes concentraciones de aceite esencial usando el vernier.
- **Indicadores** : Diámetro de halos de inhibición del crecimiento bacteriano.
- **Expresión final** : Milímetros (mm).

CUADRO N°: 3.1
RESUMEN DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES IMPLICADAS.

Variables		Definición Conceptual	Naturaleza/ Medición/ Escala de Medición	Proceso de Medición	Indicador	Instrumento	Expresión final
Independiente	Aceite esencial de <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) A. Gray "Arrayan".	Cantidad de aceite esencial extraído por destilación por arrastre de vapor que podría tener actividad antibacteriana. (47)	Cuantitativa/ Directa/ Razón o proporción	Se procedió a medir el volumen del aceite esencial en (ml) de <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) A. Gray "Arrayan" obtenidos después de la destilación por arrastre de vapor.	Volumen de aceite esencial comparado con la actividad antibacteriana sobre la cepa <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	Probeta calibrada	Mililitros (ml)
	Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (<i>Benth.</i>) Epling "Yuraq muña".	Cantidad de aceite esencial extraído por destilación por arrastre de vapor que podría tener actividad antibacteriana. (47)	Cuantitativa/ Directa/ Razón o proporción	Se procedió a medir el volumen del aceite esencial en (ml) de <i>Minthostachys spicata</i> (<i>Benth.</i>) Epling "Yuraq muña". Obtenidos después de la destilación por arrastre de vapor.	Volumen de aceite esencial comparado con la actividad antibacteriana sobre la cepa <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	Probeta calibrada	Mililitros (ml)
	Concentración de aceite esencial de <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) A. Gray "Arrayan" en colutorio elaborado.	Cantidad de aceite esencial que se requiere para que cumpla la acción farmacológica adecuada. (40)	Cuantitativa/ Directa/ Razón o proporción	Se procedió a medir el volumen del aceite esencial en (ml) luego se incluyó a diferentes concentraciones en la formulación y elaboración de colutorios.	Porcentaje de aceite esencial dentro del colutorio elaborado con la actividad antibacteriana sobre la cepa <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	Micropipeta	P/P Porcentaje (%) miligramos (uL)
	Concentración de aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (<i>Benth.</i>) Epling "Yuraq muña" en colutorio elaborado.	Cantidad de aceite esencial que se requiere para que cumpla la acción farmacológica adecuada. (40)	Cuantitativa/ Directa/ Razón o proporción	Se procedió a medir el volumen del aceite esencial en (ml) luego se incluyó a diferentes concentraciones en la formulación y elaboración de colutorios.	Porcentaje de aceite esencial dentro del colutorio elaborado con la actividad antibacteriana sobre la cepa <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	Micropipeta	P/P Porcentaje (%) miligramos (uL)
Va...							

...Viene							
Dependiente	Actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) A.Gray "Arrayan" sobre la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	Es la capacidad inherente de una sustancia de origen sintético o natural que tiene capacidad de inhibir el crecimiento o matar a las bacterias. (47)	Cuantitativa/ Directa/ Razón o proporción	Se mide los halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por las diferentes concentraciones de aceite esencial usando el vernier.	Diámetro de halos de inhibición del crecimiento bacteriano, producido por el aceite esencial.	Vernier	Milímetros (mm)
	Actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (<i>Benth.</i>) Epling "Yuraq muña" sobre la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	Es la capacidad inherente de una sustancia de origen sintético o natural que tiene capacidad de inhibir el crecimiento o matar a las bacterias. (47)	Cuantitativa/ Directa/ Razón o proporción	Se mide los halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por las diferentes concentraciones de aceite esencial usando el vernier.	Diámetro de halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por el aceite esencial.	Vernier	Milímetros (mm)
	Actividad antibacteriana de colutorio elaborado a base de aceite esencial de <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) A.Gray "Arrayan" sobre la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	Es la capacidad inherente de una sustancia de origen sintético o natural que tiene capacidad de inhibir el crecimiento o matar a las bacterias. (47)	Cuantitativa/ Directa/ Razón o proporción	Se mide los halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por las diferentes concentraciones de aceite esencial usando el vernier.	Diámetro de halos de inhibición del crecimiento bacteriano, producido por la concentración de aceite esencial en el colutorio elaborado.	Vernier	Milímetros (mm)
	Actividad antibacteriana de colutorio elaborado a base de aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (<i>Benth.</i>) Epling "Yuraq muña" sobre la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	Es la capacidad inherente de una sustancia de origen sintético o natural que tiene capacidad de inhibir el crecimiento o matar a las bacterias. (47)	Cuantitativa/ Directa/ Razón o proporción	Se mide los halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por las diferentes concentraciones de aceite esencial usando el vernier.	Diámetro de halos de inhibición del crecimiento bacteriano, producido por la concentración de aceite esencial en el colutorio elaborado.	Vernier	Milímetros (mm)
	Actividad antibacteriana de colutorio elaborado a base de aceite esencial de; <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) A.Gray "Arrayan" y <i>Minthostachys spicata</i> (<i>Benth.</i>) Epling "Yuraq muña" sobre la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	Es la capacidad inherente de una sustancia de origen sintético o natural que tiene capacidad de inhibir el crecimiento o matar a las bacterias. (47)	Cuantitativa/ Directa/ Razón o proporción	Se mide los halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por las diferentes concentraciones de aceite esencial usando el vernier.	Diámetro de halos de inhibición del crecimiento bacteriano, producido por la concentración de aceite esencial en el colutorio elaborado.	Vernier	Milímetros (mm)

Fuente: Elaboración Propia.

3.5.2 VARIABLES NO IMPLICADAS

3.5.2.1 VARIABLES INTERVINIENTES

A) DE LAS PLANTAS

- **Lugar de recolección** : Se realizará la recolección de las especies en estudio en el distrito de Urubamba, provincia de Urubamba, Departamento Cusco.
- **Temporada de recolección:** Las especies vegetales *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray “Arrayan” y *Minthostachys spicata* (*Benth.*) Epling “Yuraq muña” se recolectaran en los meses de marzo, abril, mayo.
- **Horario de recolección** : Las especies vegetales *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray “Arrayan” y *Minthostachys spicata* (*Benth.*) Epling “Yuraq muña” se recolectaran en horas de la mañana.
- **Partes de la planta a estudiar** : Se estudiará las hojas y los tallos
- **Estado de crecimiento** : Especies maduras, en floración.

B) DE LAS BACTERIAS

- **Medio de cultivo** : Se utilizará los medios de cultivo TSA Y agar sangre.
- **Bacterias aisladas** : Cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 estandarizadas y certificadas ver Anexo N°02.
- **Estado de crecimiento:** Fase 2 de la curva de crecimiento bacteriano analizado por su lectura de la densidad óptica del cultivo a 670 nm en espectrofotómetro.

3.5.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

3.5.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

A) DE LAS PLANTAS

Se tomará las partes aéreas de las plantas; *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray “Arrayan” y *Minthostachys spicata* (*Benth.*) Epling “Yuraq muña”, las hojas que no presenten daño evidente y que estén completas y homogéneas haciendo su selección de tallos y hojas según corresponda, siendo la especie vegetal identificada y certificada.

B) DE LAS BACTERIAS

Se trabajará con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, que se encuentran en buenas condiciones de temperatura, humedad y libre de contaminantes certificados de autenticidad por el laboratorio GenLab SAC.

3.5.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

A) DE LAS PLANTAS

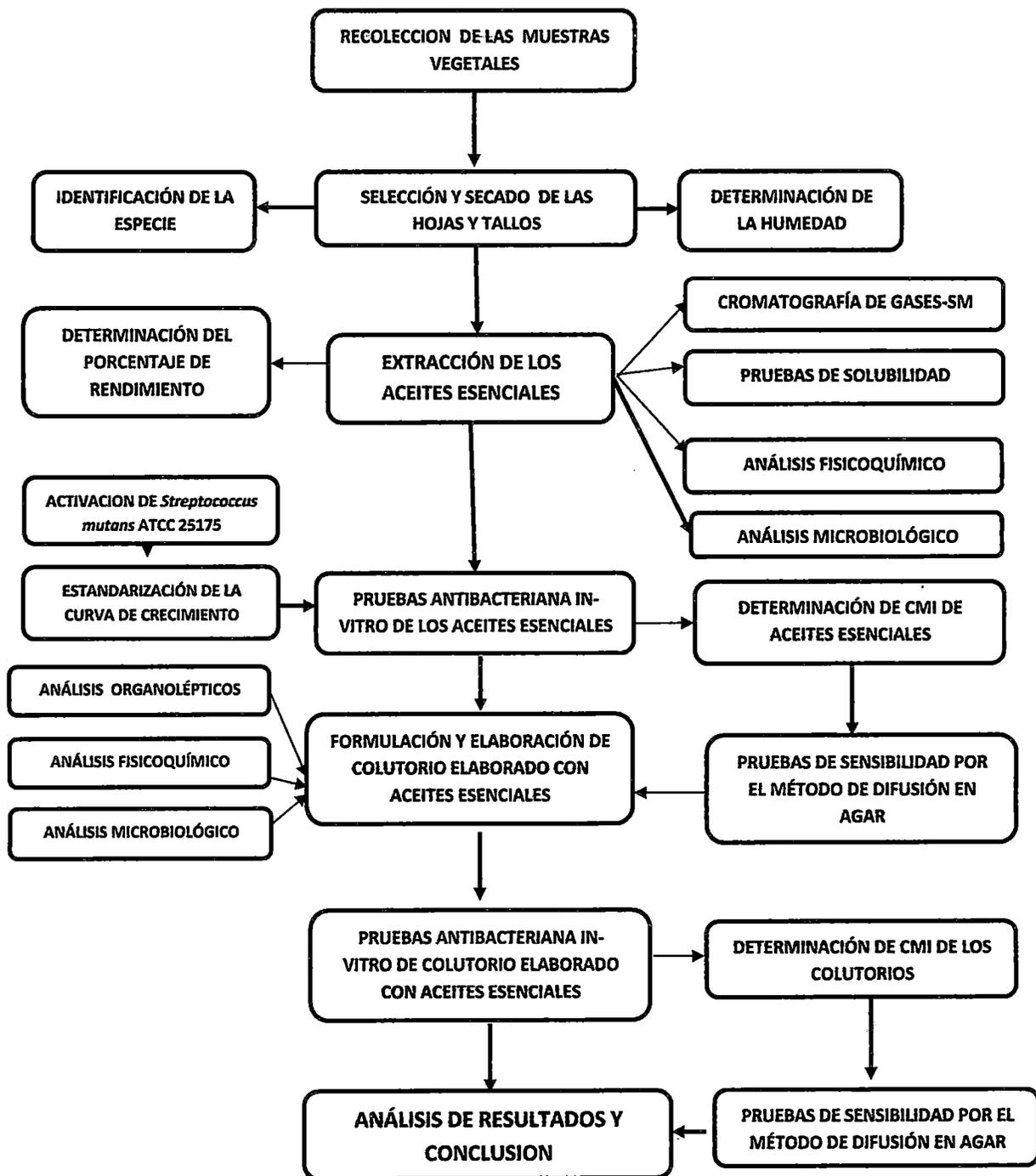
No se tomará en cuenta las raíces de igual forma las hojas, tallos dañados, con parásitos o los que presentan contaminantes, tampoco se utilizaron las raíces de las plantas.

B) DE LAS BACTERIAS

No se trabajará con cepas que no estén en buenas condiciones (Contaminación) o que no cumplan con las características básicas de la cepa.

3.6 PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

FLUJOGRAMA N° 01 PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN



Fuente: Elaboración Propia

3.6.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL

3.6.1.1 RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Se recolectaron las partes aéreas de las especie vegetal *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray “**Arrayan**” se recolectó en la comunidad de Ampay Distrito Pisac, Provincia Calca, Departamento Cusco, ubicada a 3010 msnm Con una ubicación geográfica de: Latitud: 13°24'57.2” Sur.Longitud: 71°49'15.3” Oeste. Mientras que la especie vegetal *Minthostachys spicata* (*Benth*). *Epling*. “**Yuraq muña**”, fue recolectado en la comunidad de en el Distrito San Sebastián, Provincia Cusco, Departamento Cusco, ubicada a 3550 msnm. Con una ubicación geográfica de: Latitud: 13°30'12.2” Sur.Longitud: 71°55'34.8” Oeste.

3.6.1.2 SELECCIÓN DE LA MUETRA

Una vez obtenidas las muestras se procedió a la selección y limpieza de los mejores ejemplares de hojas y tallos de las especies vegetales *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray “**Arrayan**” y *Minthostachys spicata* (*Benth*). *Epling*. “**Yuraq muña**”, luego se extrajo las partes seleccionadas en papel kraff para su respectivo secado en un lugar fresco limpio ventilado en sombra y a temperatura ambiente.

3.6.2 DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD

La determinación de la Humedad se realizará por triplicado, en placas petri vacías con 10 gr. de muestra *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray “**Arrayan**” y *Minthostachys spicata* (*Benth*). *Epling*. “**Yuraq muña**” (Hojas de la planta), las mismas que serán llevadas a estufa a 40 °C por 24 horas luego se procederá con la lectura de los pesos respectivos y se determinó el porcentaje de humedad con la siguiente relación:

$$\% H = \frac{M1 - M2}{M1}$$

Dónde:

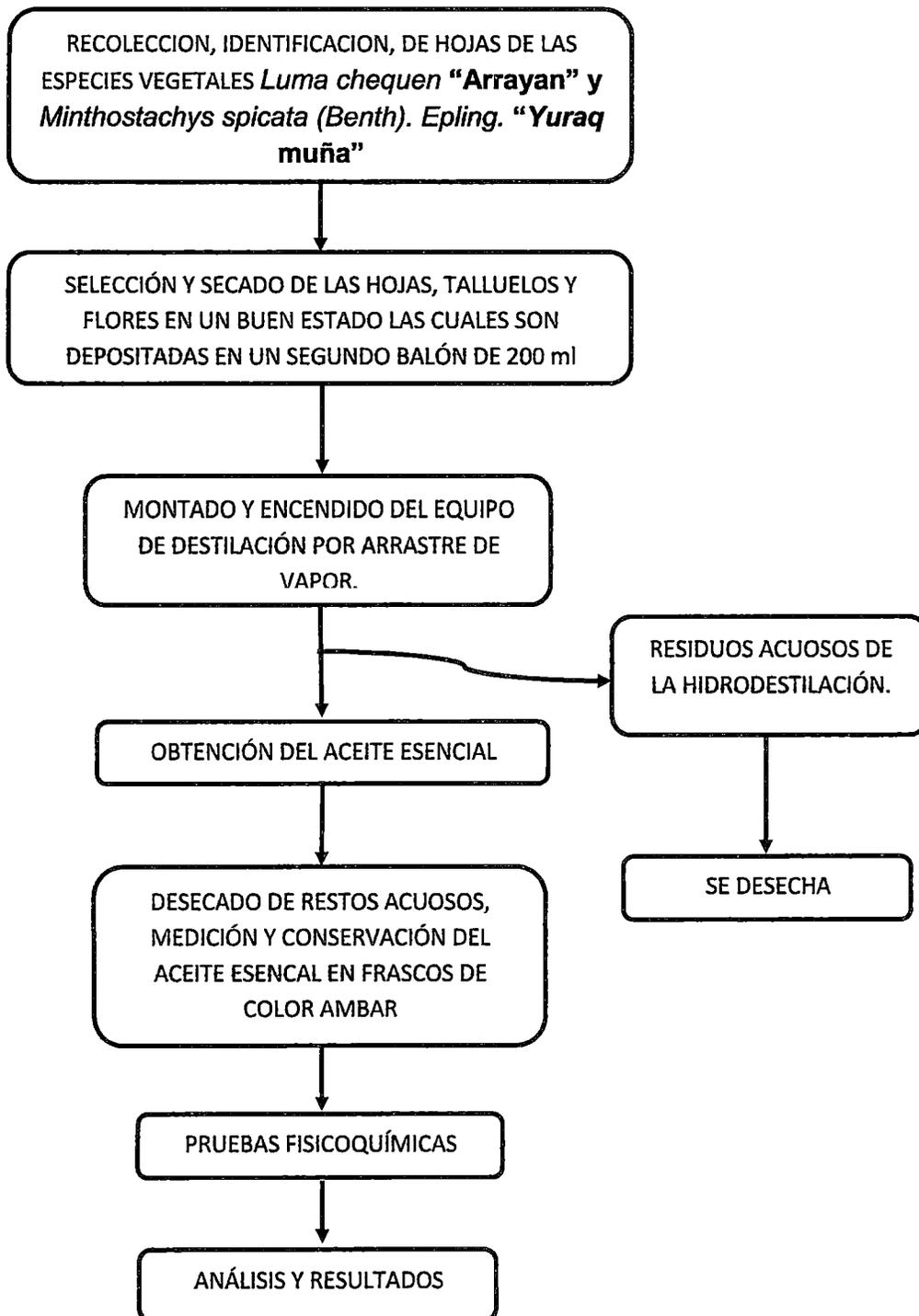
%H : Porcentaje de Humedad

M1 : Peso de Muestra fresca

M2 : Peso de Muestra seca

3.6.3 OBTENCION DE ACEITE ESENCIAL DE *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray “Arrayan” y *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. “Yuraq muña” esencial

**FLUJOGRAMA N°: 02
OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL**



Fuente: Elaboración Propia

3.6.4 DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* “Arrayan” Y *Minthostachys mollis* “Yuraq muña”

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

- ASPECTO
- COLOR
- OLOR

INDICE DE REFRACCIÓN

MÉTODO Instrumental - Refractómetro de Abee.

PROCEDIMIENTO

- Primero se calibra el instrumento con agua destilada a 14.5°C con $n_{D16}=1.3340$.
- Se limpia el prisma y se agrega con un gotero un poco de aceite esencial hasta cubrir todo el prisma y se lee a 14.5°C, esto se hace repitiendo para una mejor lectura.

DENSIDAD RELATIVA

PROCEDIMIENTO

- Se lavará y secará perfectamente el picnómetro y se pesa, anotando su peso.
- Se llena el matraz completamente con agua destilada hasta casi rebosar y se tapa con la pieza que tiene la señal de enrase o aforo. El nivel de agua debe quedar por encima de la señal del aforo.
- Con un trozo de papel de filtro se seca el picnómetro por fuera y con otro trocito de papel de filtro se quita el agua que queda por encima de la señal de aforo, dejándolo perfectamente enrasado.
- Se pesará el picnómetro por fuera y con otro trocito de papel de filtro se quitará el agua que queda por encima de la señal de aforo, dejándolo perfectamente enrasado.
- Se pesa el picnómetro con el agua destilada y se anota el peso.
- Se Vaciará el picnómetro y enjuagándolo por dentro un par de veces con un poco de aceite esencial.

- Se llena el picnómetro con el aceite esencial hasta hacerlo así rebosar, y como en el caso anterior con agua destilada, se seca por fuera y se enrasa perfectamente.
- Se pesará el picnómetro con líquido problema y anotará el peso.

CROMATOGRAFÍA DE GASES

Con la finalidad de determinar el número de componentes, del aceite esencial se realizara una caracterización por cromatografía de gases acoplado a espectro de masas, con la finalidad de separar sus diferentes componentes, para atribuir el efecto antibacteriano al componente mayoritario (44).

3.6.5 FORMULACIÓN Y ELABORACION DE COLUTORIO ELABORADO CON ACEITES ESENCIALES

3.6.5.1 FORMULACIÓN DE COLUTORIO ELABORADO CON ACEITES ESENCIALES DE *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray “Arrayan” y *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. “Yuraq muña”

Tomando en cuenta la CMI de los aceites esenciales y habiendo establecido un prototipo de preferencia sensorial (enjuague bucal Colgate Plax), se procedió a formular el colutorio. Dentro de la fórmula se consideraron las materias primas más importantes: un tensioactivo o detergente (lauril éter sulfato de sodio), sustancias humectantes (sorbitol y glicerina), un saborizante (sabor menta), un edulcorante (sacarina sódica), colorantes (verde menta y amarillo) y los principios activos (aceite esencial de la hoja de ishpingo y aceite esencial de clavo de olor). Las concentraciones utilizadas de cada materia prima están dentro de los rangos sugeridos por la bibliografía. Se elaboraron dos formulaciones, una con mayor y otra con menor contenido alcohólico con el objeto de evaluar si el alcohol ejerce algún efecto bactericida en la fórmula. En los cuadros 1 y 2, se presenta la fórmula unitaria para una presentación de 80 ml (26).

CUADRO N°: 3.2

Fórmula Unitaria Colutorio A: Colutorio elaborado con aceite esencial de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "Arrayan"

SUSTANCIA	PORCENTAJE (%)	ml
Texapón K12	3,75	1,300
Glicerina	18,40	7,360
Sorbitol 70%	1.50	0.600
Sacarina sódica	0.04	0.016
Sabor menta	2.25	0.900
Aceite esencial de <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) A.Gray "Arrayan"	2.50	1.000
Agua	72	C.S.P.40.000
Total	100,00	40.000

Fuente: Elaboración Propia

CUADRO N°: 3.3

Fórmula Unitaria Colutorio B: colutorio elaborado con aceite esencial de *Minthostachys spicata* (*Benth*). Epling. "Yuraq muña"

SUSTANCIA	PORCENTAJE (%)	ml
Texapón K12	3,75	1,300
Glicerina	18,40	7,360
Sorbitol 70%	1.50	0.600
Sacarina sódica	0.04	0.016
Sabor menta	2.25	0.900
Aceite esencial de <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) A.Gray "Arrayan"	2.50	1.000
Agua	72.00	C.S.P.40.000
Total	100,00	40.000

Fuente: Elaboración Propia

CUADRO N°: 3.4

Fórmula Unitaria Colutorio C: colutorio elaborado con aceite esencial de: *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "Arrayan" 50% Y *Minthostachys spicata* (*Benth*). Epling. "Yuraqmuña" 50%

SUSTANCIA	PORCENTAJE (%)	ml
Texapón K12	3,75	1,300
Glicerina	18,40	7,360
Sorbitol 70%	1.50	0.600
Sacarina sódica	0.04	0.016
Sabor menta	2.25	0.900
Aceite esencial de <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) A.Gray "Arrayan"	1.125	0.500
Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (<i>Benth</i>). Epling. "Yuraqmuña"	1.125	0.500
Agua	72.00	C.S.P.40.000
Total	100,00	40.000

Fuente: Elaboración Propia

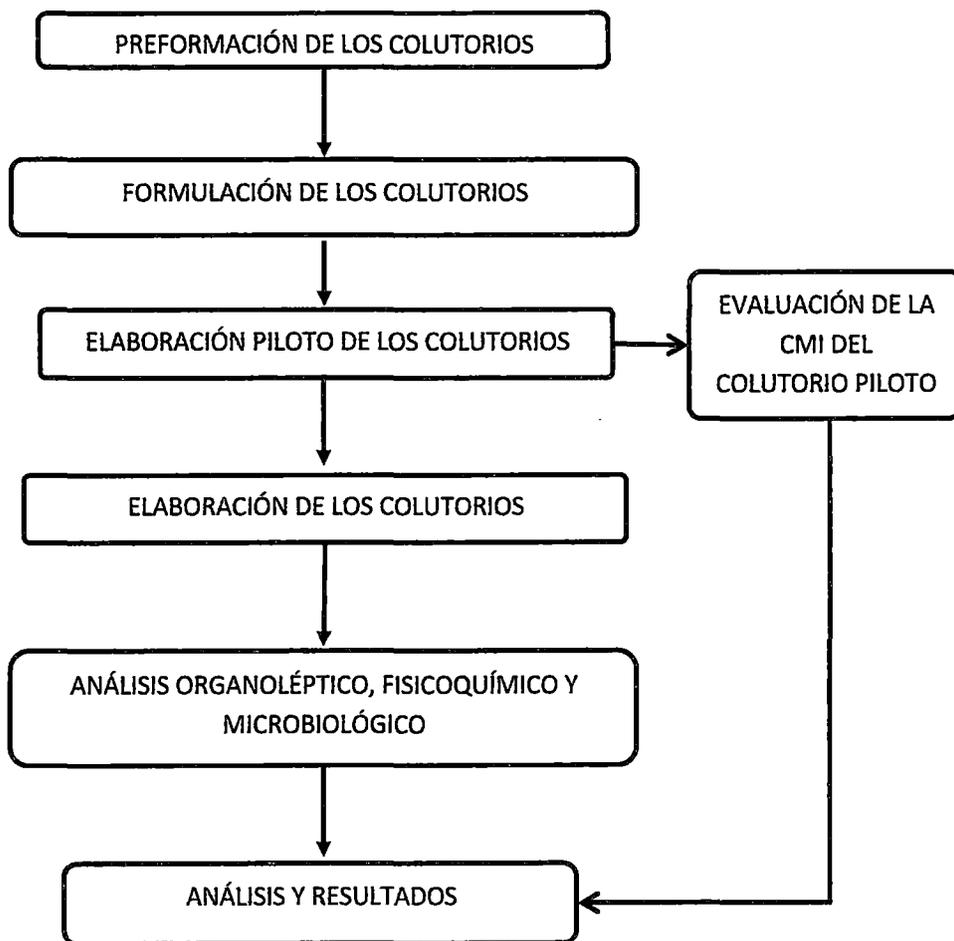
3.6.5.2. ELABORACIÓN DE COLUTORIO ELABORADO CON ACEITES ESENCIALES DE *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "Arrayan" y *Minthostachys spicata* (*Benth*). Epling. "Yuraqmuña"

En primer lugar se procederá a pesar y medir todos los ingredientes de la fórmula, seguidamente se mezclará el lauril éter sulfato de sodio junto con la glicerina, el sorbitol y el sabor menta en un agitador magnético a 800 rpm durante 10 minutos y, poco a poco, se añadieron las $\frac{3}{4}$ partes del disolvente (agua). En este punto se adicionarán la sacarina sódica y el colorante, se agitará durante cinco minutos hasta su completa disolución. Así se completará la formulación con el resto del disolvente hasta alcanzar el volumen total especificado en la fórmula. Posteriormente, se procederá al envasado y etiquetado del colutorio en un frasco de vidrio, dejándolo reposar por 24 horas para que desaparezca la espuma formada durante el Proceso de manufactura.

Finalmente, se realizarán los respectivos controles de calidad: organolépticos, físico-químicos y microbiológicos.

FLUJOGRAMA N°:04

FORMULACIÓN Y ELABORACION DE COLUTORIO ELABORADO CON ACEITES ESENCIALES *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) *A. Gray* "Arrayan" y *Minthostachys spicata* (*Benth*). *Epling*. "Yuraq muña"



Fuente: Elaboración Propia

3.6.6 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

3.6.6.1 PRIMERA FASE: PRUEBAS CON ACEITES VEGETALES

A) PROCESAMIENTO BACTERIOLÓGICO

Las cepas de ATCC que son obtenidas de GenLab S.A.C., fueron activadas en placas de Agar Sangre, estos fueron incubados a 37°C por 48 horas, posteriormente se realizó el plan de mantenimiento de las cepas mediante repiques en Agar Sangre, siendo estos utilizados en el desarrollo del trabajo.

B) ESTANDARIZACIÓN DE LAS CURVAS DE CRECIMIENTO DE LAS CEPAS

Streptococcus mutans ATCC 25175.

En la estandarización de la curva de crecimiento de cada una de las bacterias que se encuentran en estado de conservación en Agar sangre, este inóculo se propaga en BHIA (Brain and Heart Infusión Agar) e incubar en 37°C a 24 Horas *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

C) EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS ACEITES

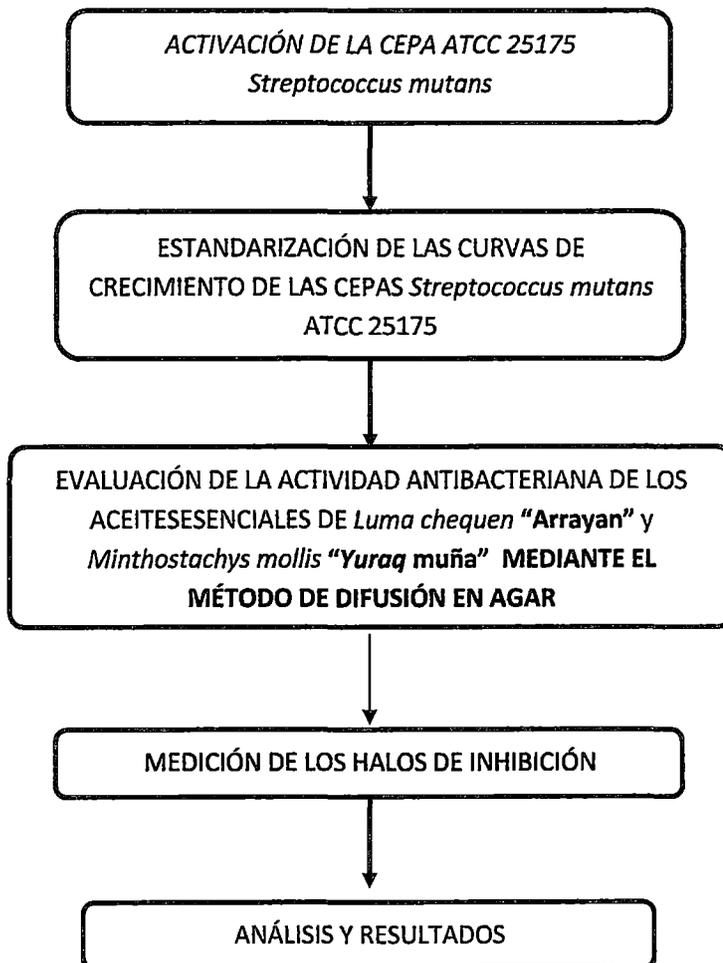
ESENCIALES DE *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray “Arrayan” y *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. “Yuraqmuña”

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE LOS ACEITES ESENCIALES

Una vez realizado las pruebas pilotos se procederán. Con la evaluación de la actividad antibacteriana de los aceites esenciales, utilizando unas pinzas estériles se colocaron sobre la placa petrí discos de papel filtro (0.6 mm de diámetro) con 25 µl de las muestras: aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray “Arrayan” y *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. “Yuraqmuña” y combinación de los mismos a 37°C por 48 horas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, transcurrido el tiempo se medirán los diámetros de la zona de inhibición con vernier y/o regla milimetrada y se apuntaran los resultados.

FLUJOGRAMA N°: 05

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES ESENCIAL
Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A. Gray "Arrayan" y *Minthostachys spicata*
(Benth). Epling. "Yuraqmuña" **CÓNTRA LAS CEPAS DE *Streptococcus***
mutans ATCC 25175.



Fuente: Elaboración Propia

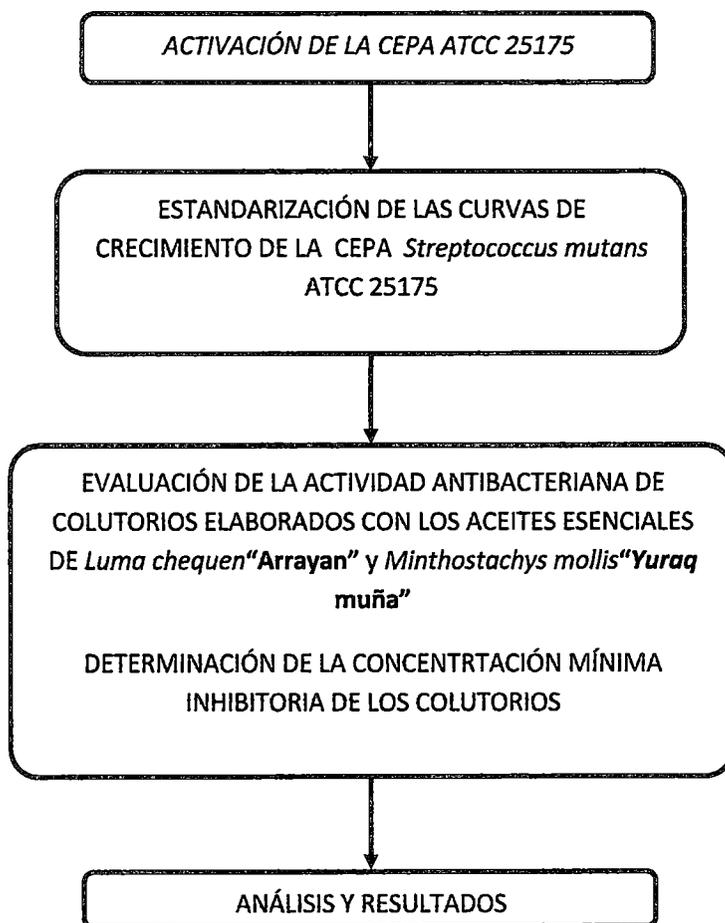
3.6.6.2 SEGUNDA FASE: PRUEBA DEL COLUTORIO ELABORADO CON ACEITES ESENCIALES

El procesamiento bacteriológico, estandarización de las curvas de crecimiento de las cepas se repite a los procedimientos realizados para aceites esenciales en la evaluación de la actividad antibacteriana de los colutorios elaborados con aceites esenciales de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "Arrayan" y *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. "Yuraqmuña", y combinación de ellos determinación de la concentración mínima inhibitoria de los frente a la cepa bacteriana de : *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a 37°C por 48 horas, transcurrido el tiempo se medirán los diámetros de la zona de inhibición con vernier y regla milimetrada y se apuntaran los resultados.

Luego se procederá a la estandarización de la concentración antibacteriana.

FLUJOGRAMA N°:06

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COLUTORIO ELABORADO CON ACEITES ESENCIALES DE *Luma chequen* (Molina) A.Gray“Arrayan” y *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. “Yuraqmuña” CONTRA LAS CEPAS *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



Fuente: Elaboración Propia

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 DE LA PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

4.1.1 RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS

Las plantas fueron recolectadas entre los meses de febrero y marzo del 2013.

- El “*Arrayan*” *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* se recolectó en la comunidad de Ampay del distrito de Pisacc, provincia de Calca, Región del Cusco a una altura aproximada de 3010 msnm. Con una ubicación geográfica de: Latitud: 13°24'57.2" Sur.Longitud: 71°49'15.3" Oeste.
- La “*Muña*” *Minthostachys spicata (Benth). Epling.* se recolectó en la comunidad de Pumamarca del distrito de San Sebastián, Provincia y región de Cusco a una altura aproximada de 3550 msnm. Con una ubicación geográfica de: Latitud: 13°30'12.2" Sur.Longitud: 71°55'34.8" Oeste.

4.1.2 SECADO DE LA PLANTA

Todo el material recolectado fue seleccionado, separando las plantas en mal estado, con plagas o dañadas posteriormente se separó las hojas y talluelos para su correspondiente extracción de aceites esenciales. Las partes más utilizadas de cada especie fueron:

- De “*Arrayan*” *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray*: Hojas, talluelos jóvenes, y flores.
- De “*Muña*” *Minthostachys spicata (Benth). Epling.*: Hojas, talluelos jóvenes, y flores.

4.1.3 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Los resultados de los porcentaje de humedad de las muestras vegetales de “*Arrayan*” *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* y “*Yuraq Muña*” *Minthostachys spicata (Benth). Epling.* se muestran en el siguiente cuadro:

CUADRO N°: 4.1

PORCENTAJE DE HUMEDAD DE "ARRAYAN" *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray Y "YURAQ MUÑA" *Minthostachys spicata* (Benth). Epling.

ESPECIE	PESO DE MUESTRA FRESCA	PESO DE MUESTRA SECA	% HUMEDAD	PROMEDIO % HUMEDAD
<i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayan"	3.9977 g.	1.9405 g.	51.4596	50.95
	3.9989 g.	1.9963 g.	50.0788	
	4.0071 g.	1.9511 g.	51.3089	
<i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling. "Yuraq Muña"	4.0425 g.	1.5916 g.	60.6283	60.14
	4.0098 g.	1.5982 g.	60.1427	
	3.9970 g.	1.6126 g.	59.6547	

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el cuadro N°4.1 muestran porcentaje de humedad promedio de las hojas de "Arrayan" *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray fue de 50,95 % y "Yuraq Muña" *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. Fue de 60,14% siendo estos valores altos para ambas muestras vegetales lo que hace propensa a una contaminación por bacterias y hongos; además de producir reacciones enzimáticas desfavorables de como son las enzimas hidrolasas, oxidasas, polimerasas que hacen que la planta no sea apta para el estudio experimenta, por lo cual permitió tomar una mayor previsión adecuada para el acondicionamiento en los procesos de secado de las muestras vegetales recolectada, Según Velazquez. (En Farmacología Básica y Clínica. 17° Edicion. Editorial Panamericana. Argentina 2003.) (48) Además la concentración alta de agua en la planta da un porcentajaje de rendimiento bajo de extracción de aceites, por lo que se sugiere dar un secado apropiado de la planta según Nuñez F. (En "Plantas medicinales y Aromáticas: Estudio Cultivo y pocesamiento".Editorial Mundi Prensa. Quinta Ediccion. Madrid España 2002.)

4.2 OBTENCION DE ACEITES ESENCIALES “ARRAYAN” *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* Y **“YURAQ MUÑA”** *Minthostachys spicata (Benth). Epling.*

La obtención de aceites esenciales de **“Arrayan”** *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* Y **“Muña Yuraq”** *Minthostachys spicata (Benth). Epling.*, se realizó la extracción por arrastre de vapor con equipo utilizado en el Laboratorio de Plantas Medicinales-Fitoquímica de la carrera profesional de Química.

4.2.1 PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los resultados del porcentaje de extracción se muestran en el siguiente cuadro.

CUADRO N°: 4.2

PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE “ARRAYAN” *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* Y **“MUÑA YURAQ”** *Minthostachys spicata (Benth). Epling.*

ESPECIE	CANTIDAD DE MATERIA PRIMA	CANTIDAD DE ACEITE ESENCIAL	PORCENTAJE DE RENDIMIENTO
<i>Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray</i> “Arrayan”	844.90 gr.	0.45 ml.	0.049%
<i>Minthostachys spicata (Benth). Epling.</i> “Yuraq Muña”	836.43 gr.	2.10 ml.	0.235%

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los datos del cuadro N° 4.2 muestran el porcentaje de rendimiento por arrastre de vapor de la especie vegetal **“Arrayan”** *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* es de 0.049% Siendo un valor rendimiento muy bajo pero encontrándose en el porcentaje de rendimiento normal de la especie vegetal, este dato nos permitió prever la provisión respectiva de gran cantidad de muestra vegetal para la extracción de aceite esencial; mientras el porcentaje de rendimiento en **“Yuraq Muña”** *Minthostachys spicata (Benth).Epling.* fue de 0.235%, siendo un valor bajo pero encontrándose en porcentaje de rendimiento dentro de los valores de porcentaje de rendimiento de la especie vegetal, este dato nos permitió para prevenir el uso de cantidad adecuada de la especie vegetal en estudio, según

Nuñez F. (En "Plantas medicinales y Aromáticas: Estudio Cultivo y pocesamiento".Editorial Mundi Prensa. Quinta Ediccion. Madrid España 2002.)

4.3 ENSAYOS PRELIMINARES

4.3.1 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

Los resultados de la observación de características organolépticas se muestran en el siguiente cuadro.

CUADRO N°: 4.3

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE "ARRAYAN" *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* Y "YURAQ MUÑA" *Minthostachys spicata (Benth). Epling.*

CARACTERÍSTICAS	ACEITES ESENCIALES	
	ARRAYAN <i>Luma chequen (Molina) A.Gray</i>	YURAQ MUÑA <i>Minthostachys spicata (Benth). Epling.</i>
ASPECTO	Translúcido	Translúcido
COLOR	Amarillo Oscuro	Claro
OLOR	Característico	Característico
SABOR	Altamente amargo	Amargo, medianamente picante

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

De acuerdo a los datos observados en el cuadro N°: 4.3 muestra el aspecto de ambos aceites esenciales son translúcidos, en el caso de "arrayan" *Luma chequen (Molina) A.Gray*, es color amarillo oscuro, olor característico al propio aceite esencial, Con un sabor amargo ligeramente picante y mientras el aceite esencial de "Yuraq Muña" *Minthostachys spicata (Benth). Epling.* Siendo de color claro, olor característico al propio aceite esencial, con un sabor amargo y medianamente picante, las características son propias de cada aceite esencial debiéndose esto a la composición química de los aceites esenciales, según Nuñez F. (En "Plantas medicinales y Aromáticas: Estudio Cultivo y pocesamiento".Editorial Mundi Prensa. Quinta Ediccion. Madrid España 2002.)

4.3.2 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

En la observación de propiedades fisicoquímicas presentes en los aceites esenciales de “Arrayán” *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray Y “Yuraq Muña” *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. Se muestran en el siguiente cuadro.

CUADRO N°: 4.4

PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS ACEITES ESENCIAL DE “ARRAYAN” *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray Y “YURQA MUÑA” *Minthostachys spicata* (Benth). Epling.

PROPIEDADES	ACEITES ESENCIALES	
	ARRAYAN <i>Luma chequen</i> (Molina) A.Gray	YURQA MUÑA <i>Minthostachys</i> <i>spicata</i> (Benth). Epling.
DENSIDAD	0.920 g/ml	0.936 g/ml
pH	6	6
INDICE DE REFRACCIÓN	1.4643 a 15°C	1.4769 a 15°C

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los valores encontrados de índices de refracción de; 1.4643 a 15°C para *Arrayan Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray y 1.4769 a 15°C para *Yuraq muña Minthostachys spicata* (Benth). Epling. Lo que indican que las muestras están conformadas posiblemente por sustancias oxigenadas aromáticas o acíclicas según LOOK 1994. Además de encontrarse dentro de los valores normales de cada aceite esencia comparados con el aceite esencial de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray, según Carhuapoma Y. Mario y otros (En el trabajo de investigación “Estudio de la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray “Arrayán” 2005.) y para el aceite esencial de la especie vegetal *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. según Fuertes Ruitón Cesar M. y Munguía Chipana Yolanda (En el trabajo de investigación “Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (K)Griseb “Muña” de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrometría de masas”. 2001).

4.3.3 DETERMINACION DE LA PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DE

“ARRAYAN” *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* Y **“YURQA MUÑA”** *Minthostachys spicata (Benth). Epling.*

En la determinación de solubilidad de los aceites esenciales de **“Arrayán”** *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* Y **“Yuraq Muña”** *Minthostachys spicata (Benth). Epling.* Se encontraron los siguientes resultados.

CUADRO N°: 4.5

RESULTADOS DE PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DE LOS ACEITES ESENCIALES DE “ARRAYAN” *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* Y **“YURQA MUÑA”** *Minthostachys spicata (Benth). Epling.*

SOLVENTE	ACEITES ESENCIALES	
	ARRAYAN <i>Luma chequen (Molina) A.Gray</i>	YURQA M UÑA <i>Minthostachys spicata (Benth). Epling.</i>
AGUA DESTILADA	-	-
ETANOL 40°	-	-
ETANOL 70°	-	++
ETANOL 90°	+	+++
ACETONA	++	+++
ACETATO DE ETILO	+++	+++
CLOROFORMO	+++	+++
ETER ETÍLICO	+++	+++
BENCINA	+++	+++
DIMETIL SULFÓXIDO	+	++
TWEEN 80	+++	+++

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda:

Muy soluble :+++
 Soluble :++
 Poco soluble :+
 Insoluble :-

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el cuadro N° 4.5 muestra los resultados de la prueba de solubilidad de los aceites esenciales de **ARRAYAN** *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* y

YURAQ MUÑA *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. Frente a diferentes solventes de polaridad creciente. Se observa que los aceites esenciales presentan un grado de solubilidad en solventes apolares como en cloroformo y éter etílico, siendo mayor en el aceite esencial de **YURAQ MUÑA** *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. Según los resultados de las muestras de los aceites esenciales son de naturaleza apolar, el TWEEN 80, sirvió para reconocer el adecuado vehículo en el desarrollo de trabajo de investigación.

4.3.4 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales de “**ARRAYAN**” *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray Y “**MUÑA**” *Minthostachys spicata* (Benth). Epling., fueron sometidos a pruebas microbiológicas necesarias para cumplir con los requisitos por la DIGESA. Las pruebas una vez finalizada fueron certificadas por un especialista ver Anexo N°03.

CUADRO N°: 4.6

RESULTADOS DE CONTROL MICROBIOLÓGICO DE ACEITES ESENCIALES DE “Arrayan” *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray Y “Muña” *Minthostachys spicata* (Benth). Epling.

CRITERIOS	ACEITES ESENCIALES		
	ARRAYAN <i>Luma chequen</i> (Molina) A.Gray	YURAQ MUÑA <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling	Límites Permisibles
Recuento de Bacterias mesofilas UFC/ml	Negativo	Negativo	5x10 ⁵ -5x10 ⁶ UFC
Salmonella	Negativo	Negativo	0 UFC
Coliformes Fecales (Escherichia Coli)	Negativo	Negativo	Ausente o en rango 10-10 ² UFC
Hongos y Levaduras	Negativo	Negativo	10 ³ -10 ⁴ UFC

Fuente: Datos Obtenidos de la constancia de análisis microbiológico de los aceites esenciales.

Leyenda:

UFC=Unidades Formadoras de Colonias,
Negativo= Ausencia de crecimiento bacteriano.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El control microbiológico realizado de los aceites esenciales **ARRAYAN** *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* y **YURAQ MUÑA** *Minthostachys spicata (Benth). Epling*, en el Cuadro N°:4.6, observándose que se encuentran libres de recuento de: mesófilos UFC/ml, Salmonella, Coliformes Fecales, y hongos y levaduras por lo que nos confirma que los aceites esenciales fueron aptos para realización del estudio ya que de esta manera se eliminó los posibles riesgos de contaminación y alteración de resultados que se podrían presentar en el estudio, cumpliendo los Criterios de Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad de los Alimentos, establecidos y recomendados por la Resolución Ministerial N°:615-2003-SA/DM aprobado por la DIGESA (Dirección General de Salud Ambiental). Además el objetivo principal de la investigación es evaluar la actividad antibacteriana por lo que con relación a la serie de informes técnicos de la Organización Mundial de Salud (OMS), N° 961 2011 del Anexo 6, en cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura establecidas por la OMS para productos farmacéuticos estériles, se conservó la esterilización de los insumos de los colutorios, cumpliendo la esterilización en todo el proceso de elaboración de los colutorios hasta llegar a un producto final del de los colutorios.

4.4 DETERMINACIÓN DE LOS PORCENTAJES DE LOS COMPONENTES DE LOS ACEITES ESENCIALES POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

Los aceites esenciales de “**Arrayan**” *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* y “**Yuraq muña**” *Minthostachys spicata (Benth). Epling*. Fueron analizados mediante cromatografía de gases acoplados a espectrometría de masas, obteniéndose los siguientes resultados.

4.4.1 CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO AL ESPECTRO DE MASAS DE “Arrayan” *Luma chequen (Molina) A.Gray*.

Se observan los el resumen de resultados en el cuadro N°: 4.7.

CUADRO N°: 4.7

RESUMEN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA POR CROMATOGRAFIA DE GASES ACOPLADO A ESPECTROFOTOMETRÍA DE MASAS DEL ACEITE ESENCIAL DE "ARRAYAN" *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray EN CONCORDANCIA CON LA BIBLIOTECA DE NIST V 8.0

N° PICO	T.R. (min)	COMPUESTO	CONTENIDO RELATIVO %
1	2,434	2,2-Dimethoxybutane	0,25
2	3,516	Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	0,12
3	4,679	Isobutil isobutirato	1,49
4	4,979	a-Phellandrene	0,66
5	5,161	a-Pinene	61,19
6	5,538	Camphene	0,21
7	6,104	2-Pentanol, propanoate	0,15
8	6,286	b-pinene	8,18
9	7,013	Butanoic acid, 2-methyl-, 2-methyl propyl ester	0,38
10	7,314	3,4-Diethyl hexane	0,38
11	7,428	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-methyl butyl ester	2,27
12	7,728	p-Cymene	0,35
13	7,859	Limonene	1,80
14	7,956	4-Carvomenthenol; terpinene-4-ol	9,76
15	8,899	g-Terpinene	0,37
16	10,443	Linalol	7,41
17	10,587	Pentanoic acid, 2-methylbutyl ester	0,46
18	13,597	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-m ethylethyl)-	0,11
19	14,177	a-Terpineol	1,02
20	16,244	Pulegona	0,68
21	24,046	b-Caryophyllene	0,57
22	26,875	Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1 -methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4aR-(4a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]	0,66
24	49,008	Nonahexacontanoic acid	0,29
25	50,251	Hexadecanoic acid, 2-oxo-, methyl ester	0,20
26	50,801	Muscimol	1,04
TOTAL			100,00

Fuente: Datos Obtenidos en el Laboratorio de Cromatografía de Gases UNSAAC.

Leyenda: T.R. (min): Tiempo de retención (minutos).

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la detección de componentes del aceite esencial de "YURAQ MUÑA" *Minthostachys spicata* (Benth). Epling., de los cuales es detallado los

componentes mayoritarios al 0.1%. Donde los componentes mayoritarios son; α -pineno con 61.19%, 4-Carvomenthenol con 9.76%, β -pineno con 8.18% y linalol con 7.41%, a los que adicionalmente podrían atribuirse la actividad antibacteriana. Siendo estos componentes mayoritarios del aceite esencial de la especie vegetal comparados según Carhuapoma Y. Mario y otros (En el trabajo de investigación "Estudio de la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "Arrayán" 2005.)

4.4.2 CROMATOGRAFÍA DE GASES DE ACOPLADO A ESPECTROS DE MASAS DE "YURAQ MUÑA" *Minthostachys spicata*(Benth). Epling.

Se observa el resumen de los resultados en el cuadro N°: 4.8.

CUADRO N°: 4.8

RESUMEN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA POR CROMATOGRAFIA DE GASES ACOPLADO A ESPECTROFOTOMETRÍA DE MASAS DEL ACEITE ESENCIAL DE "YURAQ MUÑA" *Minthostachys spicata*(Benth). Epling. EN CONCORDANCIA CON LA BIBLIOTECA DE NIST V 8.0

N° PICO	T.R. (min)	COMPUESTO	CONTENIDO RELATIVO %
1	2,434	2,2 Dimetoxibutano	0,27
2	4,975	α -Pineno	0,40
3	5,153	1S- α -Pineno	0,36
4	6,180	Canfeno	0,22
5	6,278	β -Pineno	0,35
6	6,645	Mirceno	0,51
7	6,798	3-Octanol	0,40
8	7,462	α -Terpineno	0,25
9	7,724	p-Cimeno	3,14
10	7,855	Limoneno	0,60
11	7,969	Eucaliptol	0,13
12	8,506	Fomato linalil	0,59
13	8,895	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1- ethylethyl)	3,00
14	9,238	g-Terpineno	0,15
15	10,438	Linalol	2,30
16	11,390	3-Octanol, acetate	0,40
17	12,599	2s-Tras Mentona	29,65
18	13,407	L-Mentol	0,96
19	13,530	Ethanone, 1-(1,4-dimethyl-3-cyclohexen-1-yl)	0,76
20	16,261	Pulegona	30,06
21	16,853	Acetato nonil	3,54
			Va...

...viene			
22	16,921	Citronelol	2,41
23	18,705	Timol	2,86
24	20,693	Safranal	0,75
25	21,285	Carvacrol	5,97
26	21,805	Limoneno	2,25
27	22,587	Acetato geranil	0,37
28	24,046	Farnesol	2,08
29	26,668	Valencene	1,19
30	27,323	Canfeno	1,96
31	49,955	Acetamide, 2-[7-ethyl-3-(2,2,2-tri fluoroacetyl) indol-1-yl]-N-(tetrah ydrofuran-2-ylmethyl)	1,00
32	50,065	Acetamide, 2-[7-ethyl-3-(2,2,2-tri fluoroacetyl) indol-1-yl]-N-(tetrah ydrofuran-2-ylmethyl)	1,12
TOTAL			100,00

Fuente: Datos Obtenidos en el Laboratorio de Cromatografía de Gases UNSAAC

Leyenda: T.R. (min): Tiempo de retención (minutos)

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la detección de componentes del aceite esencial de "YURAQ MUÑA" *Minthostachys spicata*(Benth). Epling., de los cuales es detallado los componentes mayoritarios al 0.1 %, Donde los componentes mayoritarios son; pulegona con 30,06 %, 2S-Tras Mentona con 29.65%, a los que adicionalmente podrían atribuirse la actividad antibacteriana, encontrándose estos dantos dentro de los valores comparados según Fuertes Ruitón Cesar M. y Munguía Chipana Yolanda (En el trabajo de investigación "Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (K)Griseb "Muña" de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrometría de masas". 2001).

4.5 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES

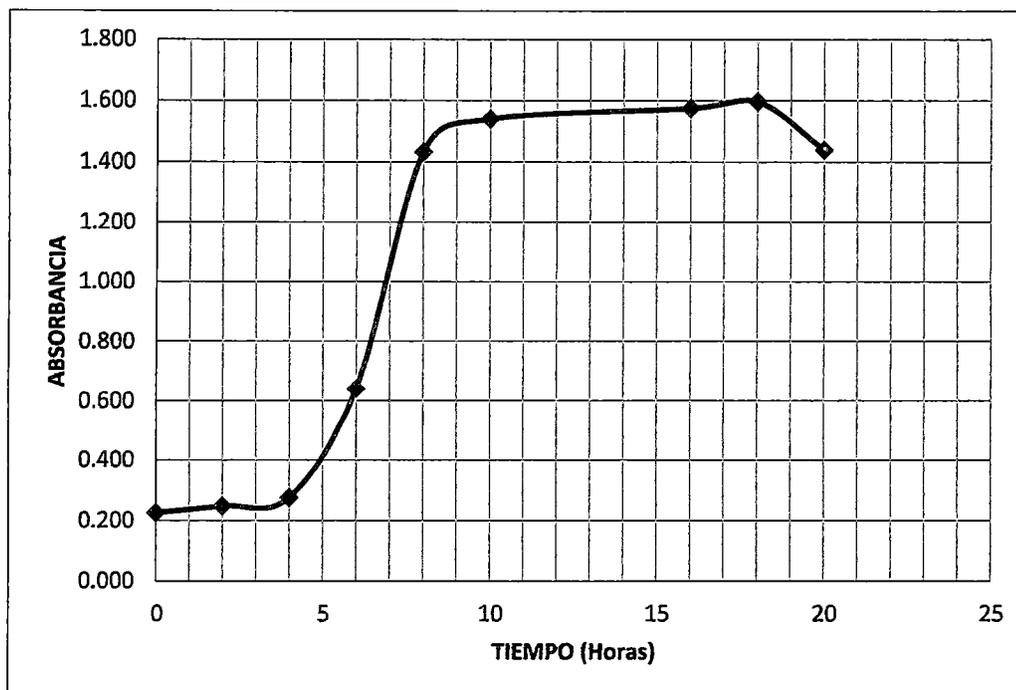
FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

4.5.1 ACTIVACIÓN DE LA CEPA.

4.5.2 CURVA DE CRECIMIENTO ANTIBACTERIANO

CUADRO N°: 4.9

CURVA DE CRECIMIENTO DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



Fuente: Datos Obtenidos en el Laboratorio.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En esta grafica se observa el comportamiento y desarrollo de las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en desarrollo claramente en la curva de crecimiento bacteriano graficada con los datos experimentales en la cual la cepa presenta; una fase exponencial logarítmica de crecimiento entre 4,5 a 8.5, luego entra a una fase estacionaria de aproximadamente 9 a 18 horas.ver (Anexo 09).

La curva de crecimiento bacteriano de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se obtuvo de la observación; absorbancia vs tiempo con datos que se obtuvieron en el laboratorio. Siendo una curva de crecimiento adecuado en según la especie bacteriana en estudio comparados según Liebéman Ureña M José. (En "Microbiología Oral" 2da Edcion. Editorial McGRAW-HILLInteramericana. Madrid-España 2002).

4.5.3 PRUEBA PRELIMINAR DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS ACEITES ESENCIALES

4.5.3.1 PRUEBA PILOTO DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA POR MÉTODO DE DILUCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

A) CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA POR MÉTODO DE DILUCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

CUADRO N°: 4.10

CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA POR EL MÉTODO DE DILUCIÓN.

N°	CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL EN (uL/ml)	TURBIDEZ DE LOS TUBOS DE ENSAYO					
		Aceite de "arrayan" <i>Luma chequen</i> (Molina) A.Gray			Aceite de "yuraq muña" <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling.		
		i	ii	iii	i	ii	iii
Rango de medición 10-1000 ul/ml							
1	10	+	+	+	+	+	+
2	100	+	+	+	+	+	+
3	1000	-	-	-	-	-	-
Rango de medición 110-130 ul/ml							
4	110	+	+	+	+	+	+
5	115	+	+	+	+	+	+
6	120	+	+	+	+	+	+
7	125	+	+	+	-	-	-
8	130	-	-	-	-	-	-
Rango de medición 150-750 ul/ml							
9	150	-	-	-	-	-	-
10	250	-	-	-	-	-	-
11	500	-	-	-	-	-	-
12	750	-	-	-	-	-	-

Fuente: Elaboración Propia.

Leyenda:

- i, ii, iii : NÚMERO DE PRUEBAS
- - : NO HAY CRECIMIENTO
- + : SI EXISTE CRECIMIENTO

ANÁLISIS DE RESULTADOS

El cuadro N°: 4.10, muestra la concentración mínima inhibitoria por el método de dilución de los aceites esenciales, donde se muestra que para el aceite esencial

de "ARRAYAN" *Luma chequen* (Molina) A.Gray, existe crecimiento bacteriano hasta una dilución de 125 uL/ml y para aceite esencial de "YURAQ MUÑA" *Minthostachys spicata*(Benth). Epling., con crecimiento bacteriano de 120 uL/ml Siendo esta concentración un valores dentro del rango de sensibilidad comparados con el trabajo de investigación de AGUILERA María C, ROMANO E, Ramos Norys, Rojas Laura (En el trabajo de investigación "Sensibilidad del *Streptococcus mutans* a tres enjuagues bucales comerciales (estudio in vitro) 2011).

4.5.3.2 DETERMINACIÓN IN-VITRO DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB) DE LOS ACEITES ESENCIALES MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN EN MEDIO LÍQUIDO

A) DETERMINACION DE UFC POR EL MÉTODO DEL VACIADO EN AGAR

PCA

CUADRO N°: 4.11

Determinación de UFC POR EL METODO DEL VACIADO EN AGAR PCA

N° Tubo	Concentración de solución de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Numero de colonias	UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC)
1	Solución madre	Numeroso	Numeroso
2	10 ⁻¹	Numeroso	Numeroso
3	10 ⁻²	Numeroso	Numeroso
4	10 ⁻³	Numeroso	Numeroso
5	10 ⁻⁴	9	90000
6	10 ⁻⁵	1	100000
7	10 ⁻⁶	0	0
8	10 ⁻⁷	0	0

UFC

Fuente: Elaboración Propia

ANÁLISIS DE RESULTADOS

En el Cuadro N°:4.11 Se muestran los resultados de la unidades formadoras de colonias a las diluciones de: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} , las cepas bacterianas ATCC 25175 *Streptococcus mutans* medidas a las 12 Horas de crecimiento bacteriano en el espectrofotómetro a 0.2 de Absorbancia a una longitud de onda de 670 nm. Tomándose en cuenta la cantidad de 90, 000 UFC correspondiente al Tubo N°5 resaltada de color verde, que equivalente a la dilución de 10^{-4} de la solución madre.

B) CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB) DE LOS ACEITES ESENCIALES MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN EN MEDIO LÍQUIDO

CUADRO N°: 4.12
CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA POR EL MÉTODO DEL VACIADO

N° Tubo	Concentración del aceite esencial en (%)	Conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC)	
		Aceite del aceite esencial "Arrayan" <i>Luma chequen</i> (<i>Feuilleé ex Molina</i>) A.Gray	Aceite del aceite esencial "Yuraq Muña" <i>Minthostachys spicata</i> (<i>Benth</i>). Epling.
1	100.00	10	0
2	50.00	CMB → 70	0
3	25.00	300	0
4	12.50	1040	CMB → 80
5	6.25	10800	90
6	3.13	Numeroso UFC	110
7	1.56	Numeroso UFC	16000
8	0.78	Numeroso UFC	Numeroso UFC
9	0.39	Numeroso UFC	Numeroso UFC
10	0.19	Numeroso UFC	Numeroso UFC

Fuente: Elaboración Propia

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el Cuadro N°: 4.12 Se reportan los resultados del Concentración Mínima Bactericida por el Método de Vaciado, de los aceites esenciales de "ARRAYAN" *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray y "YURAQ MUÑA" *Minthostachys spicata*(Benth). Epling. Frente a las cepas bacterianas *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en experimentación, en el cual se muestra para el aceite esencial de "ARRAYAN" corresponde a una Concentración Mínima Bactericida (CMB) resaltado de color verde pertenece al 50.00% de concentración de aceite esencial con 30 UFC correspondiendo al Tubo N°2.

En el aceite esencial de "YURAQ MUÑA" se obtuvo una Concentración Mínima Bactericida (CMB) resaltado de color amarillo pertenece al 12.50% de concentración del aceite esencial con 80 UFC, correspondiente al Tubo N°4.

De esta manera permitió determinar la Concentración Mínima Bactericida frente las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante la reducción al 0.1% o menor del número de bacterias del inóculo original, o la reducción de 1000 veces del inóculo original, o lo que es lo mismo, reduce el inóculo inicial en 99.9%, siendo nuestro inóculo original de 90000 Unidades Formadoras de Colonias, para la evaluación de ambos aceites esenciales.(47)

4.5.4. DETERMINACIÓN IN-VITRO DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE LOS ACEITES ESENCIALES MEDIANTE EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO.

CUADRO Nº: 4.13

RESULTADOS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE “ARRAYAN” *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray Y “YURAQ MUÑA” *Minthostachys spicata* (Benth). Eplin, SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

HALOS DE INHIBICION (mm) DE LOS ACEITES ESENCIALES FRENTE A <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175									
Nº	Concentración del Aceite Esencial en (mg/500uL)	Aceite esencial de “ARRAYAN” <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.Gray				Aceite Esencial “YURAQ MUÑA” <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epli.			
		I (mm)	II (mm)	III (mm)	PROMEDIO (mm)	I (mm)	II (mm)	III (mm)	PROMEDIO (mm)
1	5	0	0	0	0	0	0	0	0
2	10	0	0	0	0	0	0	0	0
3	15	0	0	0	0	0	0	0	0
4	25	8,1	8,4	8,4	8,30	13,50	13,30	13,80	13,53
5	50	9,7	10,2	9,7	9,87	13,90	13,80	13,80	13,83
6	75	11,2	11	11,6	11,27	14,10	14,20	14,10	14,13
7	100	11,4	11,3	11,6	11,43	14,20	14,30	14,40	14,30
8	125	12,4	12,1	10,5	11,67	14,80	14,20	14,40	14,47
9	150	11,5	12,1	11,6	11,73	14,60	14,50	14,70	14,60
10	175	12	11,7	11,8	11,83	14,80	15,20	14,90	14,97
11	200	12,1	12,5	12,2	12,27	15,10	15,50	15,10	15,23
12	225	13,9	14,4	13,6	13,97	17,10	16,80	18,00	17,30
13	250	13,1	13	13,3	13,13	19,80	18,90	18,10	18,93
14	275	12,8	13,2	13,1	13,03	17,00	16,70	17,20	17,96

Fuente: Elaboración Propia.

Leyenda: I, II, III = Número de pruebas.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El Cuadro N°4.13 Muestra los resultados de los halos de inhibición bacteriana, donde la Concentración Mínima Inhibitoria esta resaltada de color amarillo de los aceites esenciales de **"ARRAYAN"** *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* es de 25UL/500uL con 8,30 mm halo de inhibición y **"YURAQ MUÑA"** *Minthostachys spicata(Benth). Epling*, de 25UL/100UL con 13,53 mm halo de inhibición Frente a las cepas bacterianas ATCC 25175, mientras las concentraciones máximas están resaltas de color verde para aceites esenciales de Arrayan es de 225 uL/500uL con 13.97mm de halo de inhibición y para Yuraq muña es de 250 uL/500uL con 18.93 mm de halo de inhibición.

CUADRO N°: 4.14

RESULTADO DESCRIPTIVO DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE "ARRAYAN" *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A. Gray*, FRENTE A LAS CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Concentración de aceite esencial	N	Desviación estándar	Media de diámetros de los halos de inhibición (mm)	Intervalo de confianza al 95%		Mínimo (mm)	Máximo (mm)
				Límite Inferior	Límite Superior		
15	3	0	0	0	0	0	0
25	3	0.1732	8.3000	7.8697	8.7303	8.10000	8.4000
50	3	0.2889	9.8667	9.1496	10.5838	9.70000	10.2000
75	3	0.3055	11.2667	10.5078	12.0256	11.0000	11.6000
100	3	0.1528	11.4333	11.0539	11.8128	11.3000	11.6000
125	3	1.0214	11.6667	9.1293	14.2041	10.5000	12.4000
150	3	0.3214	11.7333	10.9348	12.5319	11.5000	12.1000
175	3	0.1528	11.8333	11.4539	12.2128	11.7000	12.0000
200	3	0.2082	12.2667	11.7496	12.7838	12.1000	12.5000
225	3	0.4041	13.9667	12.9627	14.9706	13.6000	14.4000
250	3	0.1528	13.1333	12.7539	13.5128	13.0000	13.3000
275	3	0.2082	13.0300	12.5162	13.5505	12.8000	13.2000

Fuente: Datos Estadísticos

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Del Cuadro N°: 4.14. Se observan los resultados descriptivos de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del aceite esencia de "Arrayan" *Luma chequen (Molina) A. Gray*, presentan halos de inhibición desde 0,0mm a una concentración de 15mg/ml, con un valor máximo representativo se encuentra a una concentración de 225mg/ml con un halo de inhibición de 13.9667 mm frente a las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

CUADRO N°: 4.15

ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE "ARRAYAN" *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray, FRENTE A LAS CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Fuente: Datos Estadísticos.

ANOVA	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	448.741	11	40.795	292.551	0
Intra-grupos	3.3470	24	0.139		
Total	452.088	35			

Leyenda:

Gl=grados de libertad

F=distribución de Fisher

Sig=Significancia.

Sig= < ó =0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición

Sig= >0.05, no existe diferencia significativa entre dos halos de inhibición

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Según los resultados de análisis de varianzas ANOVA, del Cuadro N°: 4.15 se observa que el valor significativo es de 0, un valor que está por debajo de 0.05 por lo que se puede afirmar que existe diferencias significativas entre las diferentes concentraciones del aceite esencial de "**ARRAYAN**" *Luma chequen* (Molina) A.Gray.

Como ANOVA nos dio diferencias significativas, para saber cual de las muestras utilizadas obtuvo mayor diámetro de halo de inhibición se realizó la prueba de DUNCAN.

CUADRO N°: 4.16

COMPARACIONES MULTIPLES DE DUNCAN DE LOS SUBCONJUNTOS DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE "ARRAYAN" *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray*, FRENTE A LAS CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Concentración de aceite esencial (ml/500uL)	N	Subconjuntos para alfa= 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
15	3	0						
25	3		8.3000					
50	3			9.8667				
75	3				11.2667			
100	3				11.4333			
125	3				11.6667	11.6667		
150	3				11.7333	11.7333		
175	3				11.8333	11.8333		
200	3					12.2667		
275	3						13.0333	
250	3						13.1333	
225	3							13.9667
Sig.		1	1	1	0.107	0.083	0,7460	1

Fuente: Datos Estadísticos.

Leyenda:

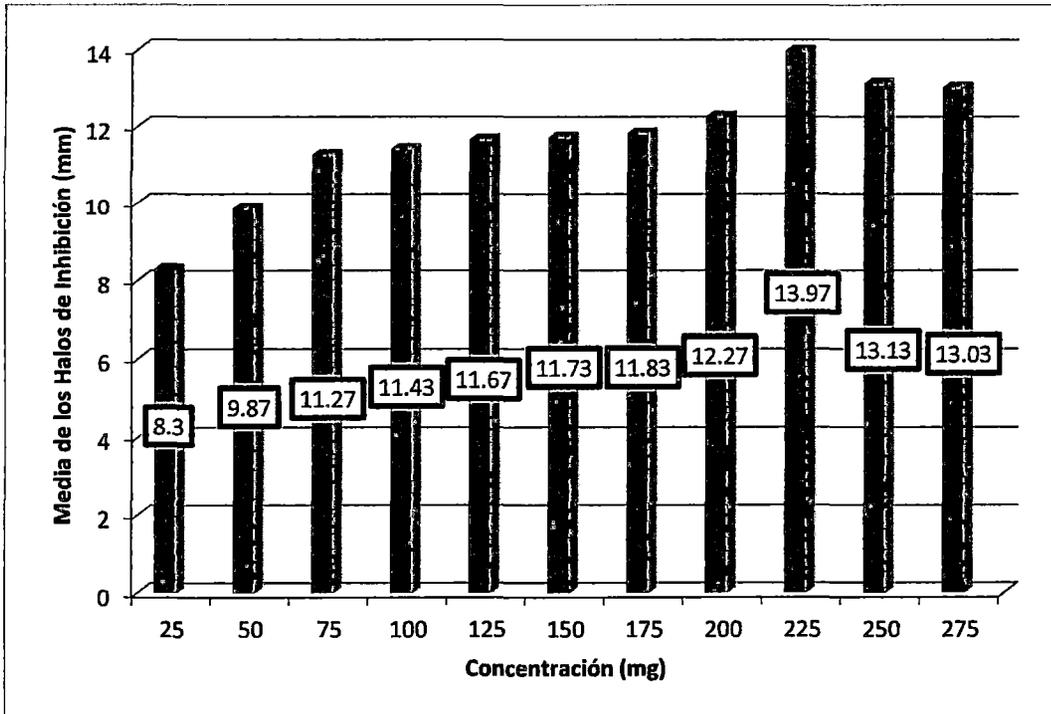
Sig=Significancia.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El cuadro N° 4.16 se puede apreciar que se obtuvieron siete subconjuntos al comparar las medias de los halos de inhibición, en el séptimo subconjunto se observar el valor máximo de halo de inhibición, correspondiente de 13.9667, corresponde a la concentración de del aceite esencial a concentración de 225 ml/500uL. Del aceite esencial "**Arrayan**" *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray*.

GRAFICO N°: 4.1

ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE "ARRAYAN" *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray*, FRENTE A LAS CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



Fuente: Datos Experimentales.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el gráfico N°: 01 Se observan los resultados descriptivos de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del aceite esencia de "Arrayan" *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray*, presentan halos de inhibición desde 0,0 mm a una concentración de 15mg/ml, con un valor máximo representativo se encuentra a concentración de 225mL/uL con un halo de inhibición de 13.97 mm frente a las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

CUADRO N°: 4.17

RESULTADOS DESCRIPTIVO DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. "Yuraq muña", FRENTE A LAS CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Concentración de aceite esencial (ml/500uL)	N	Desviación estándar	Media de diámetros de los halos de inhibición (mm)	Intervalo de confianza al 95%		Mínimo (mm)	Máximo (mm)
				Límite Inferior	Límite Superior		
15	3	0	0	0	0	0	0
25	3	13.5333	8.3000	12.9082	14.1585	13.3000	13.8000
50	3	13.8333	9.8667	13.6899	13.9768	13.8000	13.9000
75	3	14.1333	11.2667	13.9899	14.2768	14.1000	14.2000
100	3	14.3000	11.4333	14.0516	14.5484	14.2000	14.4000
125	3	14.4667	11.6667	13.7077	15.2256	14.2000	14.8000
150	3	14.6000	11.7333	14.3516	14.8484	14.5000	14.7000
175	3	14.9667	11.8333	14.4496	15.4838	14.8000	15.2000
200	3	15.2334	12.2333	14.6596	15.8070	15.1000	15.5000
225	3	17.3000	13.1333	15.7487	18.8513	16.8000	18.0000
250	3	18.9333	13.9667	16.8206	21.0461	18.1000	19.8000
275	3	16.9667	13.9667	16.3415	17.5918	16.7000	17.2000

Fuente: Datos Estadísticos

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el cuadro N° 4.17 Se observan los resultados descriptivos de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del aceite esencia de *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. "Yuraq muña", presentan halos de inhibición desde 0,0mm a una concentración de 15mg/ml, con un valor máximo representativo se encuentra a concentración de 250mg/ml con un halo de inhibición de 19.8000 mm frente a las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

CUADRO N°: 4.18

ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. "Yuraq muña", FRENTE A LAS CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Fuente: Datos Estadísticos

ANOVA	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	730.229	11	66.385	546.874	0
Intra-grupos	2.913	24	0.121		
Total	733.142	35			

Leyenda:

Gl=grados de libertad

F=distribución de Fisher

Sig.=Significancia

Sig= < ó =0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición

Sig= >0.05, no existe diferencia significativa entre dos halos de inhibición

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El cuadro N°: 4.18 muestra los resultados de análisis de varianzas ANOVA, se observa que el valor significativo es de 0, siendo un valor que está por debajo de 0.05 por lo que se puede afirmar que existe diferencias significativas entre sus diferentes concentraciones formados por el aceite esencial de "Yuraq muña" *Minthostachys spicata* (Benth). Epling.

Como el análisis de varianzas nos dio diferencias significativas, para determinar cuál de las muestras utilizadas obtuvo mayor diámetro de halo de inhibición se realizó la prueba de DUNCAN.

CUADRO N°: 4.19

**ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys
spicata (Benth). Epling. "Yuraq muña", FRENTE A LAS CEPAS DE
Streptococcus mutans ATCC 25175.***

Fuente: Datos Estadísticos.

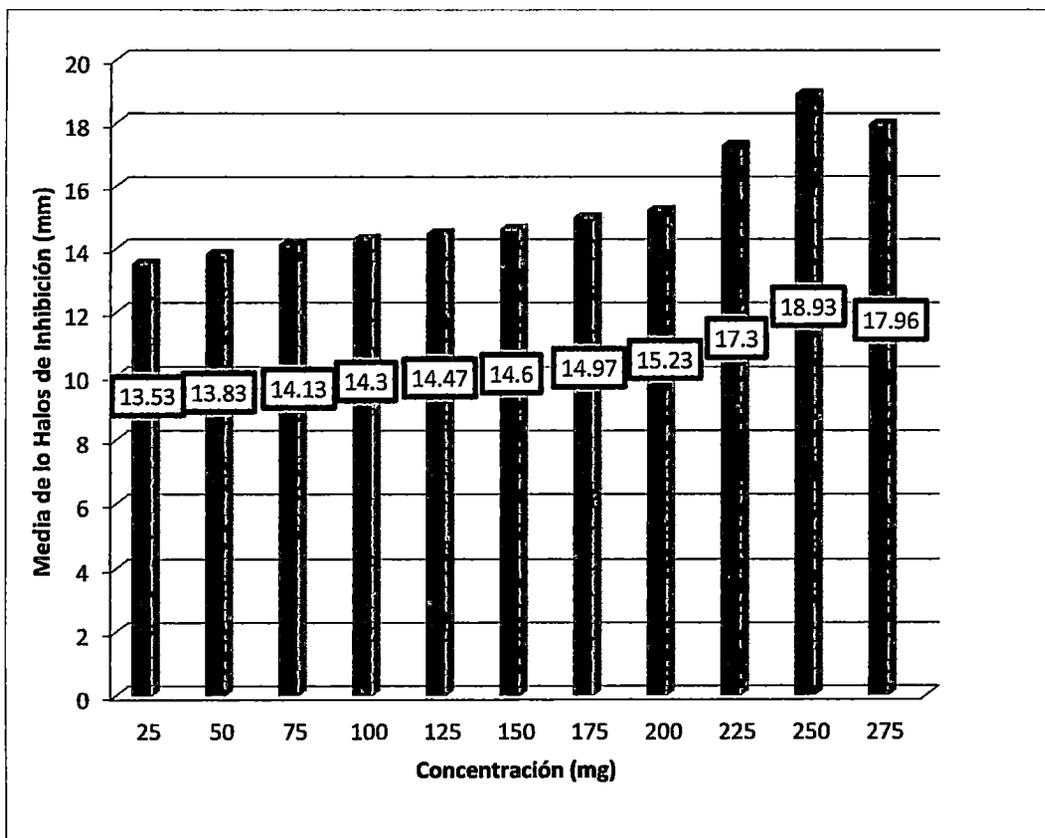
Concentrac ión de aceite esencial (ml/500uL)	N	Subconjuntos para alfa= 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
15	3	0							
25	3		13.5333						
50	3		13.8333	13.8333					
75	3		14.1333	14.1333	14.1333				
100	3			14.3000	14.3000				
125	3			14.4667	14.4667	14.4667			
150	3					14.6000			
175	3					14.9667	14.9667		
200	3						15.2333		
275	3							16,9667	
225	3							17.3000	
250	3								18.9333
Sig.		1	0,056	0,051	0.145	0.108	0,358	0,253	1

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el presente cuadro N°: 4.19 se observa ocho subconjuntos al comparar las medias de los halos de inhibición, en el octavo subconjunto se observar el valor máximo de halo de inhibición, correspondiente de 18,9333, corresponde a la concentración de del aceite esencial a concentración de 250 ml/500uL del aceite esencial de *Minthostachys spicata (Benth). Epling. "Yuraq muña"*.

GRAFICO N°: 4.2

RESULTADOS DESCRIPTIVO DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. "Yuraq muña", FRENTE A LAS CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el gráfico N°: 02 Se observan los resultados descriptivos de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del aceite esencia de "Arrayan" *Luma chequen* (Molina) A.Gray, presentan halos de inhibición desde 0,0mm a una concentración de 15mg/ml, con un valor máximo representativo se encuentra a concentración de 250mL/500uL con un halo de inhibición de 18.93 mm frente a las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

4.6 FORMULACIÓN Y ELABORACIÓN DE COLUTORIO CON ACEITE ESENCIAL DE “ARRAYAN” *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray Y “YURAQ MUÑA” *Minthostachys spicata* (Benth). Epling.

CUADRO N°: 4.20

CARACTERÍSTICAS DE LOS COLUTORIOS ELABORADOS CON ACEITE ESENCIALES Y COLUTORIOS COMERCIALES

		Colutorios Elaborados				Colutorios Comerciales		
		A	B	C	C-	D	E	F
Organolépticas	Color	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Azul	Verde	Azul
	Olor	Menta- muña	Menta	Menta	Menta	característicos	característicos	Característicos
	Sabor	Menta	Menta	Menta	Menta	característico	Menta	Eucalipto
	Apariencia	Líquido Transparente						
Fisicoquímicas	Densidad	1,0395	1,0450	1,0413	1,0287	0,994	1,0423	1,0050
	Índice de Refracción	1,3719	1,3734	1,3732	1,3610	1,3534	1,3640	1,3686
	Ph	6	6	6	6	6	5	5
Microbiológicas	Aerobios Totales	0 UFC						
	Coniformes Totales	0 UFC						
	Mohos y Levaduras	0 UFC						

Fuente: Elaboración Propia.

LEYENDA: Colutorio elaborado con aceite esencial de Arrayan, B: Colutorio elaborado con aceite esencial de Yuraq muña, C: Colutorio elaborado con aceite esencial de 50% Arrayan Y 50% Yuraq muña, C-: Colutorio elaborado sin aceites esenciales, D: Colutorio Colgate, E: Colutorio Dento, F: Colutorio Listerine.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El presente cuadro muestra las características de los colutorios elaborados con aceites esenciales comparado con los colutorios patrones, donde; las características organolépticas de los colutorios elaborados son, de olor a menta, sabor a menta, sin un color, y las características fisicoquímicas son aceptables a comparación de los colutorios comerciales, por último las características microbiológicas demuestran que no existe contaminación microbiana, contaminación y alteración de resultados que se podrían presentar en el estudio, de acuerdo a la Resolución 1418 aprobado el 09 de junio del 2011 (Ver Anexo N°04 del control microbiológico) por la Comunidad Andina. Además se conoce que los resultados de los colutorios elaborados con aceites esenciales evaluados en comparación con los colutorios comerciales, presentando características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas dentro de los rangos establecidos y comparable con colutorios comerciales.

4.6.1 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS COLUTORIOS ELABORADOS Y LOS ENJUAGUES BUCALES COMERCIALES POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN MEDIO SÓLIDO

CUADRO Nº: 4.21

RESULTADO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS COLUTORIOS ELABORADOS SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Nº	Colutorios	Concentración de Aceite esencial	DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION (mm)			PROMEDIO
			Dato1	Dato2	Dato3	
COLUTORIOS ELABORADOS						
1	Sin Aceites Esenciales	0%	10.10	10.10	10.00	10.07
2	Con Aceite Esencial de: ➤ "ARRAYAN" <i>Luma cheque</i> .	100%	11.7	11.40	11.60	11.57
3	Con Aceite Esencial de: ➤ "ARRAYAN" <i>Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray</i> ➤ "YURAQ MUÑA" <i>Minthostachys spicata (Benth). Epling.</i>	50%	11.40	11.00	10.50	10.96
		50%				
4	Con Aceite Esencial de: ➤ "YURAQ MUÑA" <i>Minthostachys spicata (Benth). Epling.</i>	100%	11.70	12.10	11.50	11.76
ENJUAGUES COMERCIALES						
6	DENTO		14.20	14.50	14.00	14.23
7	LISTERINE		0	0	0	0
8	COLGATE		17.60	17.40	17.30	17.43

Fuente: Elaboración Propia.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El cuadro Nº: 4.21 Muestra los resultados de los halos de inhibición frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 recolectados, observándose el mayor halo de inhibición del colutorio de Colgate con 17,43 mm, seguido por el colutorio Dento con un diámetro de 14,2333 mm y los colutorios elaborados con aceites esencial de "Arrayan" *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* con 11,5667 mm mayor al del colutorio elaborado con aceite esencial de *Minthostachys spicata (Benth). Epling.* "Yuraq muña" con 11,7667 mm de diámetro a la vez es superior al colutorio Listerine.

CUADRO N°: 4.22

RESULTADOS DESCRIPTIVO DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LOS COLUTORIOS ELABORADOS CON ACEITES ESENCIALES DE “ARRAYAN” *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* Y “YURAQ MUÑA” *Minthostachys spicata (Benth). Epling.* SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Concentración del colutorio	N	Media (mm)	Desviación típica	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo (mm)	Máximo (mm)
				Límite inferior	Límite superior		
Colutorio de Arrayan	3	11,56667	0,152753	11,18721	11,94612	11,400	11,700
Colutorio de muña	3	11,76667	0,305505	11,00775	12,52558	11,500	12,100
Colutorio de 50Arrayan/50Muña	3	10,96667	0,450925	9,84651	12,08683	10,500	11,400
Sin aceite	3	10,06667	0,057735	9,92324	10,21009	10,000	10,100
Colgate	3	17,43333	0,152753	17,05388	17,81279	17,300	17,600
Dento	3	14,23333	0,251661	13,60817	13,60817	14,000	14,500
Listerine	3	0	0	0	0	0	0

Fuente: Datos Estadísticos.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el cuadro N° 4.22 se observan los resultados descriptivos de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana de colutorios elaborados con aceites esenciales de “Arrayan” *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* y de *Minthostachys spicata (Benth). Epling.* “Yuraq muña”, comparados con colutorios comerciales, observándose al valor mayor que le colutorio Colgate con 17.433 mm de diámetro, seguido por el colutorio Dento con un diámetro de 14,2333 mm y los colutorios elaborados con aceites esencial de “Arrayan” *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* con 11,5667 mm mayor al del colutorio elaborado con aceite esencial de *Minthostachys spicata (Benth). Epling.* “Yuraq muña” con 11,7667 mm de diámetro a la vez es superior al colutorio Listerine.

CUADRO N°: 4.23

ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS HALOS DE INHIBICION DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS COLUTORIOS ELABORADOS CON ACEITES ESENCIALES DE "ARRAYAN" *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray Y "YURAQ MUÑA" *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

ANOVA	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	523.47000	6	87,245	1489.547	0
Intra-grupos	0.82000	14	0.059		
Total	704.6418	20			

Fuente: Datos Estadísticos.

Leyenda:

Gl=grados de libertad

F=distribución de Fisher

Sig=significancia

Sig= < ó =0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición

Sig= >0.05, no existe diferencia significativa entre dos halos de inhibición

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El cuadro N°: 4.23 muestra los resultados de análisis de varianzas ANOVA, se observa que el valor significativo es de 0, un valor que está por debajo de 0.05 por lo que se puede afirmar que existe diferencias significativas entre los halos de inhibición formados por los colutorios elaborados con aceites esenciales, lo que significa que existe de los halos de inhibición en sus diferentes colutorios.

Como el análisis de varianzas nos dio diferencias significativas, para saber cuál de las muestras utilizadas obtuvo mayor diámetro de halo de inhibición se realizó la prueba de DUNCAN.

CUADRO N°: 4.24

ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LOS COLUTORIOS ELABORADOS CON ACEITES ESENCIALES DE "ARRAYAN" *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* Y "YURAQ MUÑA" *Minthostachys spicata (Benth). Epling.* SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

colutorio	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Listerine	3	0					
Sin aceites esenciales	3		10,0667				
Con aceite 50Arrayan/50Muña	3			10,9667			
Arrayan	3				11,5667		
Muña	3				11,7667		
Dento	3					14,2333	
Colgate	3						17,4333
Sig.		1,000	1,000	1,000	0,329	1,000	1,000

Fuente: Datos Estadísticos

Leyenda:

Sig= Significancia

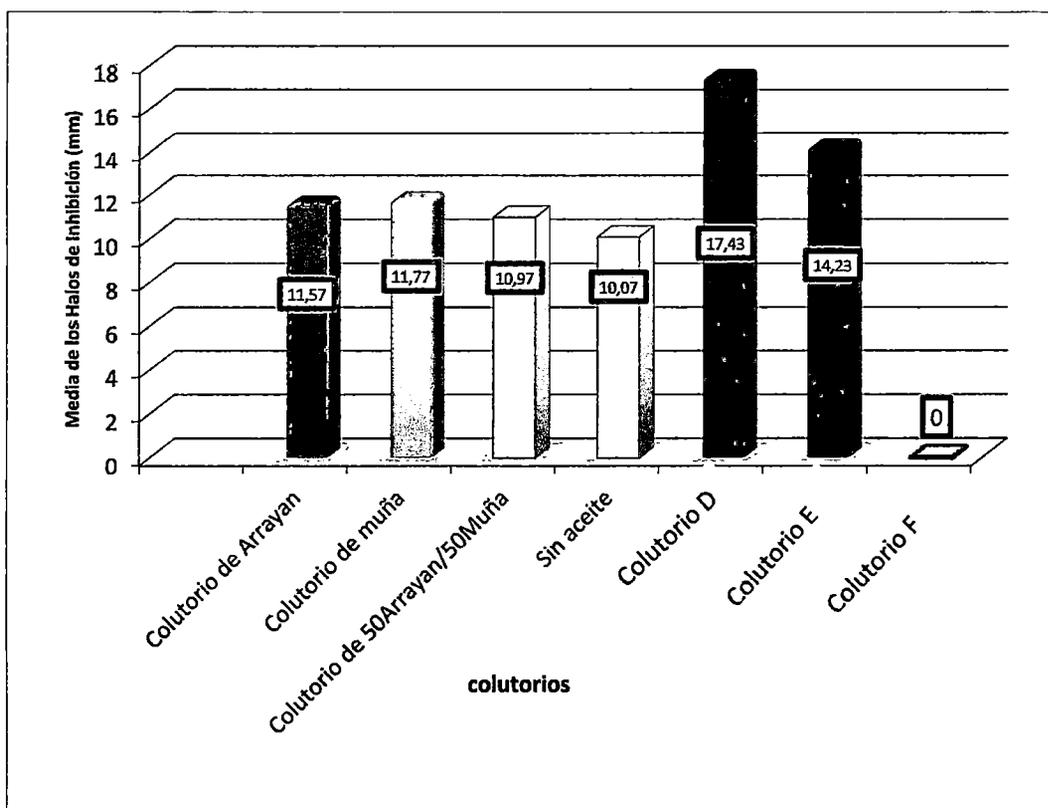
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el presente cuadro N°: 4.24 se observa seis subconjuntos al comparar las medias de los halos de inhibición, en el sexto subconjunto se observar el valor máximo de halo de inhibición correspondiente de 17,4333 mm, del patrón de comparación Colgate, seguido en el quinto subconjunto por el colutorio Dento con un diámetro de 14,2333 mm.

En el cuarto subconjunto se observa a los colutorios elaborados con aceites esencial de "Arrayan" *Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray* con 11,5667 mm mayor al del colutorio elaborado con aceite esencial de *Minthostachys spicata (Benth). Epling.* "Yuraq muña" con 11,7667 mm de diámetro a la vez que es superior al colutorio Listerine.

GRAFICO N°: 4.3

RESULTADOS DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS COLUTORIOS ELABORADOS CON ACEITES ESENCIALES DE "ARRAYAN" *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray Y "YURAQ MUÑA" *Minthostachys spicata* (Benth). Epling. SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



Fuente: Datos estadísticos.

Leyenda: Colutorio D= Colutorio Colgate, Colutorio E= Colutorio Dento, Colutorio F= Colutorio Listerine.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Según los resultados del Gráfico N°:03, donde se observa que se el valor máximo de halo de inhibición, correspondiente de 17,4333 mm al colutorio Colgate, seguido por el colutorio Dento con un diámetro de 14,2333 mm.

Además los colutorios elaborados con aceites esencial de "Arrayan" *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray con 11,5667 mm mayor al del colutorio de "Yuraq muña" *Minthostachys spicata* (Benth). Epling con 11,7667 mm de diámetro a la vez es superior al colutorio Listerine.

CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

CONCLUSIONES

1. Se determinó la actividad antibacteriana In-Vitro de colutorio elaborado con aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán", *Minthostachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq muña" frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, donde presentan una actividad antibacteriana superior al colutorio Listerine e inferior al de Colgate y Dento.
2. Se extrajo los aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán" y *Minthostachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq muña" utilizándose el método de destilación por arrastre de vapor
3. Se determinó el porcentaje de rendimiento de los aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán" de 0.049%, siendo un rendimiento muy bajo, mientras *Minthostachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq muña" tiene 0.235%, siendo a un rendimiento adecuado.
4. Se evaluó las características fisicoquímicos, e identificó los componentes mayoritarios por cromatografía de gases de los aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán" posee las propiedades fisicoquímicas adecuadas para la formulación de los colutorios con los componentes mayoritarios son; α -pineno con 61.19%, 4-Carvomenthenol con 9.76%, β -pineno con 8.18% y linalol con 7.41% y *Minthostachys spicata* (Benth). Epling "Yuraq muña" también tienen las propiedades fisicoquímicas adecuadas para la formulación de los colutorios, donde los componentes mayoritarios son; pulegona con 30,06 %, 2S-Tras Mentona con 29.65%.
5. Se determinó la concentración mínima inhibitoria de los aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán" que es de 25 mg/500uL con 8,30 mm y "Yuraq muña" *Minthostachys spicata* (Benth). Epling, de 25 mg/500uL con 13,53 mm frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

6. Se formuló y elaboró colutorio con aceites esenciales de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "**Arrayán**" y *Minthostachys spicata* (*Benth*). *Epling* "**Yuraq muña**", obteniéndose tres colutorios: el primer colutorios de aceite esencial de "**Arrayán**", el segundo colutorios de aceite esencial de **Yuraq muña**" y el tercer colutorio de ambos aceites esenciales, cuyos halos de inhibición fueron 11.57 mm, 11.76 mm y 10.96 mm respectivamente frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

7. Se evaluó las características fisicoquímicas, siendo adecuados a comparación de los demás colutorios comerciales, al observar las características microbiológicas no se encontró contaminación bacteriana ni fúngica y se evaluó también las características organolépticas de los colutorios elaborados, siendo no muy aceptables en cuanto al gusto.

SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES

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

- Incentivar a la adquisición de equipos y utilización para el estudio e investigación intercarrera de especies vegetales de nuestra región, mediante concursos científicos y posteriores becas de estudio.

A LOS DOCENTES DE LA CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA.

- Incentivar a la formulación y elaboración de productos antisépticos de salud oral, como pastas dentales, colutorios, hilos dentales incluyendo como principios activos aceites esenciales de especies vegetales de nuestra región.
- Sugerir la utilización de materiales y equipos para la evaluación de los mecanismos de acción, farmacocinética de los aceites esenciales y productos derivados de las plantas medicinales obtenidas de nuestra región.
- Incentivar a la publicación científica de trabajos de investigación en revistas científicas web. De trabajos de tesis realizados por los alumnos de la carrera profesional de farmacia y bioquímica

A LOS ALUMNOS DE LA CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

- Se sugiere investigar las plantas de nuestra región con contenido de aceites esenciales que son muy poco estudiadas y que podrían ser más eficaces y de mucha importancia para la elaboración de colutorios y pastas dentales.
- Evaluar la actividad antibacteriana de los aceites esenciales y productos elaborados a base de especies vegetales de nuestra región en problemas y enfermedades estomatológicas humanas.

BIBLIOGRAFÍA

1. **ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (2007)**, Salud bucodental, Nota informativa N°318, [Acceso: 28/04/2015]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/es/index.html>
2. **ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (2004)**, El problema mundial de las enfermedades bucodentales, [Acceso: 14/10/ 2014], disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/es/index.html>
3. **HALITOSIS**, [Acceso: 28/04/2015]. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Halitosis>
4. **PASCUAL LA ROCCA, Andrés, SAVOINI, Marzia, SANTOS, Antonio**, HALITOSIS Y COLUTORIOS ORALES. [Acceso: 28/04/2015]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1138123X2005000400004&script=sci_arttext
5. **ENJUAGUE BUCAL**, [Acceso: 28/04/2015]. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Colutorios_bucales
6. **CARHUAPOMA Y. Mario, LÓPEZ G, Sofía, ROQUE A. Mirtha, VELAPATIÑO Billie, BELL C, WHU W. Delia (2009)** en el trabajo de investigación de "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* Griseb "YURAQMUÑA".
7. **MANTILLA HOLGUÍN, Justo y OLAZÁBAL CASTILLO, Oscar**, Las Plantas Medicinales de nuestra Madre Tierra "Valle Sagrado de los Inkas-Cusco"; INSTITUTO DE ECOLOGÍA Y PLANTAS MEDICINALES "Pachamama Hampihoranchiskuna", PERÚ - 2008
8. **ARICAPA BARRERA Dina Paola**, ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PLANTAS SOBRE MICROORGANISMOS CARIOGÉNICOS, FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS, BACTERIOLOGÍA DE LA PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA (2009).

9. UNIVERSIDAD DE LIMA
"CATALOGO DE PLANTAS MEDICINALES"
FACULTAD DE INGENIERÍA INDUSTRIAL
CENTRO DE INVESTIGACION DE LA PRODUCCIÓN INDUSTRIAL (CIPI)
RESPONSABLE DE EDICION - CIPI
(1994)

10. **CHAVEZ C, Juan.**

Consultor de IICA-GTZ. "Orientación de la Investigación Agraria Hacia el desarrollo Alternativo"

"PLANTAS MEDICINALES EN ATENCION PRIMARIA DE SALUD, AGROINDUSTRIA, FITOQUIMICA Y ECOTURISMO: PERSPECTIVAS DE DESARROLLO EN LA REGION LOS LIBERTADORES WARI"

PROYECTO IICA-GTZ (INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA)

UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUAMANGA, AYACUCHO PERÚ, 1998.

11. **CARHUAPOMA Y. Mario, BONILLA R. Pablo, SUAREZ C. Silvia, VILLA Roser y LOPEZ G. Sofia**

ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTOIXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE Luma chequen (Molina) A. Gray "Arrayán".
Revista Ciencia e Investigación 8(2) Facultad de Farmacia y Bioquímica
UNMSM 2005 ISSN 1561-0861.

12. **FUERTES RUITÓN Cesar M. y MUNGUÍA CHIPANA Yolanda**

ESTUDIO COMPARATIVO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* (K)Griseb "Muña" DE TRES REGIONES PERUANAS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS
Ciencia e investigación Vol IV(1) 2001 Investigación de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos

13. **CARHUAPOMA Y. Mario, LÓPEZ G, Sofia, ROQUE A. Mirtha,**

VELAPATIÑO Billie, BELL C, WHU W. Delia (2009)
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* Griseb "YURAQMUÑA"

14. MORANTE MUDARRA Sergio

VALORACIÓN CRUZADA Y A DOBLE CIEGO, MEDIANTE EL MODELO DE GINGIVITIS EXPERIMENTAL, DE LA EFICACIA DE TRES COLUTORIOS DE CLORHEXIDINA SIN ALCOHOL FRENTE A LA PREVENCIÓN DE GINGIVITIS Y A LA NEOFORMACIÓN DE PLACA SUPRAGINGIVAL
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
Departamento de Medicina y Cirugía Bucofacial
Tesis Doctoral (2003).

15. SALAZAR, L. A.; MEDINA, F.; DONOSO, F.; BARRIENTOS, L. & SANHUEZA, A.

ACCIÓN ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE LA MIEL DE ABEJAS SOBRE LOS MICROORGANISMOS CARIOGÉNICOS ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO *mutans*, *Int. J. Morphol.*, 27(1):77-82, 2009.

16. MATUTE CENTENO MARIA ELENA

EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL EXTRACTO DE PIPER ANGUSTIFOLIUM (Matico) Y LA CLORHEXIDINA COMO ANTISEPTICOS BUCALES
UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
FACULTAD DE ODONTOLOGIA (2009) tesis para optar el título profesional de Cirujano Dentista.

17. ALVARADO VILLANUEVA Verónica y MOROMI NAKATA Hilda PLANTAS MEDICINALES: EFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DE *Plantago major* L., *Erythroxylum novogranatense*, *Plowman var truxillense* y *Camelliasinensis* SOBRE BACTERIAS DE IMPORTANCIA BACTERIOLÓGICA

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS UNIVERSIDAD DEL PERÚ, DECANATO DE AMÉRICA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA REVISTA CIENTÍFICA ODONTOLOGÍA SAN MARQUINA Vol.13 N°2, Julio-Diciembre 2010.

18. Eficacia in-vitro de un colutorio elaborado con aceite esencial de la hoja de ishpingo *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. ex O.C.Schmidt y clavo de olor *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry.
Tatiana de los Ángeles Mosquera y Teresa Melania Veloz Vera

Centro de Investigación y Valoración de la Biodiversidad –CIVABI,
Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador
Artículo recibido el 15 de marzo de 2011. Aceptado, tras revisión el 30 de
mayo de 2011.

19. Aguilera María C, Romano E, Ramos Norys, Rojas Laura Departamento
de Ciencias Morfopatológicas. Facultad de Odontología. Universidad de
Carabobo

SENSIBILIDAD DEL *Streptococcus mutans* A TRES ENJUAGUES
BUCALES COMERCIALES (ESTUDIO *IN VITRO*)
ODOUS CIENTIFICA Vol. 12 No. 1, Enero - Junio 2011.

20. Luma chequen, [Acceso: 14/10/ 2014], disponible en:

http://es.wikipedia.org/wiki/Luma_chequen

21. Luma chequen, [Acceso: 14/10/ 2014], disponible en:

http://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=luma+chequen+descripcion+botanica&source=web&cd=2&cad=rja&ved=0CCQQFjAB&url=http%3A%2F%2Fwww.asocam.org%2Fportal%2Fsites%2Fdefault%2Ffiles%2Fpublicaciones%2Farchivos%2FBIBLIOTECA_0066.pdf&ei=Qx4UPvoK5Ky8ATAw4CYBw&usq=AFQjCNHyM_oWZzKPW_1YLBfW_bMAHfWC5w

22. PAMPLONA ROGER, Jorge D.

“ENCICLOPEDIA DE PLANTAS MEDICINALES”,
1996

23. MOSCOSO CASTILLA, Mariano

“SECRETOS MEDICINALES DE LA FLORA PERUANA Y GUÍA DE LA
MATERNIDAD”,
Cuarta edición Cusco 1997

24. Muña [Acceso: 28/04/2015]. Disponible
en: http://es.wikipedia.org/wiki/Minthostachys_mollis

**25. Herbotecnia. Tecnología en producción de plantas medicinales,
aromáticas y tintoreas.**

Minthostachys mollis (HBK)

[Acceso: 28/04/2015]. Disponible en:: <http://www.herbotecnia.com.ar/aut-peperina.html>

- 26. MUÑOZ LOPEZ DE BUSTAMANTE, Fernando**
PLANTAS MEDICINALES Y AROMATICAS
Ediciones Mundi Pensa 4ª reimpresión Madrid España 2002
- 27. ACEITE ESENCIAL**, [Acceso: 14/10/ 2014], disponible en:
http://es.wikipedia.org/wiki/Aceite_esencial
- 28. OLAYA FLÓREZ Julia Maria Y MÉNDEZ ALZAMORA Jacobo**
“GUIA DE PLANTAS Y PRODUCTOS NATURALES”
2003
- 29. CASTELLANOS BALLESTEROS, Juan Jimenez y otros**
“ANATOMIA HUMANA GENERAL”
UNIVERSIDAD DE SEVILLA 2007 ESPAÑA
- 30. CLAUDE MARTINI, Marie**
“INTODUCCION A LA DERMATOLOGÍA Y A LA COSMETOLOGÍA”
Editorial ACRIBIA, S.A. ZARAGOZA (ESPAÑA) 2005
- 31. NEGRONI, Marta**
“MICROBIOLOGIA ESTOMATOLOGICA”
EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA
BUENOS AIRES, ARGENTINA 2001.
- 32. LIEBÉMAN UREÑA, M José**
“MICROBIOLOGÍA ORAL”
2da edición, McGRAW-HILL-INTÉRAMERICANA DE ESPEÑA, S.A.U.,
Madrid España 2002. FUENMAYOR FERNÁNDEZ, Vicente
“MANUAL DE HIGIENE BUCAL”
Buenos Aires; Madrid: Medica Panamericana 2009
Sociedad Española de Periodoncia y Osteointegración.
EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA

33. PLACA DENTAL, [Acceso: 28/04/2015]. Disponible en:

http://es.wikipedia.org/wiki/Placa_dental

34. Streptococcus mutans, [Acceso: 28/04/2015]. Disponible en:

http://es.wikipedia.org/wiki/Streptococcus_mutans

35. CEPA [Acceso: 28/04/2015]. Disponible en:

<http://es.wikipedia.org/wiki/Cepa>

36. KONEMAN Elmer K y otros

“DIAGNOSTICO MICROBIOLÓGICO”

EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA S.A. 2008 Buenos Aires Argentina

37. URMENETA, B. Alonso y otros

MANUAL PRÁCTICO DE MICROBIOLOGÍA
MASSON S.A. 2002

38. CUENCAS SALA Emili y otros.

“ODONTOLOGIA PREVENTIVA Y COMUNITARIA”

3ra EDICIÓN 2005 Editorial MASSON s.a.

39. VILA JATO, Jose luis

FORMAS FARMACÉUTICAS Volumen II
EDITORIAL SINTESIS S.A. 2001.

40. AMERICAN DENTAL ASOCIACIÓN, Colutorio [Acceso: 28/04/2015].

Disponible en: <http://www.ada.org/3352.aspx#tratamiento>

41. COLUTORIO LISTERINE, [Acceso: 28/04/2015]. Disponible en:

www.odontologos.com.co/proveedores_afiliados/listerine/unlisterineparacadapaciente.html

42. CROMATOGRAFÍA DE GASES, [Acceso: 28/04/2015]. Disponible en:
<http://www.encyclopediamedica.cl/index.php?sec=6&list=1&item=1258>

43. SKOOG, DOUGLAS A. Y Otros
FUNDAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA
THOMSONS, Octava edición

44. TECNICA ESPECTROFOTOMÉTRICA, [Acceso: 28/04/2015]. Disponible en: http://www.semtredi.com/tecnica_metod_espectro.htm

45. AZPEITIA GAMAZO, Paloma y ROSADO SANZ, Antonio.

“SUELO: REVISIÓN COMENTADA DE MÉTODOS DE ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RPIORITARIOS EN SUELOS”

Editor Antonio Callba de Rosa, España 2004.

46. MOSBY (2003)

“DICCIONARIO MOSBY DE MEDICINA, ENFERMERÍA Y CIENCIAS DE LA SALUD” 6ta. Edición. España.

47. LITTER Manuel

“FARMACOLOGÍA EXPERIMENTAL Y CLÍNICA”

7º edición, Editorial El Ateneo, Buenos Aires, Argentina.

47. DIAZ, Ramon, GAMAZO, Carlos y LOPEZ GOÑI, Ignacio.

“MANUAL PRÁCTICO DE MICROBIOLOGÍA”

2da edición, Editorial MASSON Madrid España 2002.

48. VELAZQUEZ, Lorenzo. R.

“FARMACOLOGIA BÁSICA Y CLINICA”

18ª. EDICION. Editorial Medica PANAMERICANA, Madrid España 2008.

ANEXOS

ANEXO N° 01

IDENTIFICACIÓN DE LA PLANTA EN ESTUDIO POR EL HERBARIO VARGAS (CUZ).

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- **APARTADO POSTAL**
N° 921 - Cusco - Perú
- **FAX:** 238156 - 238173 - 222512
- **RECTORADO**
Calle Tigre N° 127
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398
- **CIUDAD UNIVERSITARIA**
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232370 - 232375 - 232226
- **CENTRAL TELEFÓNICA:** 232398 - 252210
243835 - 243836 - 243837 - 243838
- **LOCAL CENTRAL**
Plaza de Armas s/n
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015
- **MUSEO INKA**
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380
- **CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA**
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246
- **COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"**
Av. De la Cultura N° 721
"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192

EL QUE SUSCRIBE, PROFESOR INVESTIGADOR ASOCIADO AL HERBARIO VARGAS (CUZ)

CERTIFICA:

Que el Señor **Victor Moina Gallegos**, alumno de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la Facultad de Ciencias Químicas, Físicas, Matemáticas, Farmacia e Informática de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; ha solicitado a la Dirección del Herbario Vargas (CUZ), la determinación taxonómica de dos muestras vegetales herborizadas, las que al ser diagnosticada utilizando bibliografía especializada, corresponde a las especies, *Luma chequen* y *Minthostachys spicata*, cuya posición taxonómica de acuerdo a Cronquist (1981), compatibilizada con el Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group, APG III (2009), es la siguiente:

División Magnoliophyta (=Angiospermas)
Clase Magnoliopsida = Tricolpados (Eudicotiledóneas).
Subclase Rosidae
Super orden Rosanae
Orden Myrtales
Familia Myrtaceae
Género *Luma*
Especie *Luma chequen* (Feuillée ex Molina) A. Gray

Sinonimia: *Eugenia bella* Phil, *Eugenia chequen* Feuillée ex Molina, *Eugenia gayana* Barnéoud, *Eugenia myrtomimeta* Diels, *Eugenia pulchra* O.Berg., *Luma gayana* (Barnéoud) Burret, *Myrceugenella chequen* (Feuillée ex Molina) Kiesel, *Myrtus chequen* (Feuillée ex Molina) Spreng.

Nombres comunes: "arrayán", "rayán", "mirto"

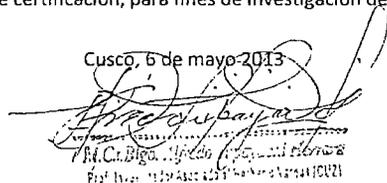
División Magnoliophyta (=Angiospermas)
Clase Magnoliopsida = Tricolpados (Eudicotiledóneas).
Subclase Asteridae
Super orden Asterales
Orden Lamiales
Familia Lamiaceae
Género *Minthostachys*
Especie *Minthostachys spicata* ((Benth.) Epling

Sinonimias: *Bystropogon glabrescens* Benth., *Bystropogon spicatus* Benth.

Nombres comunes: "muña", "rap'l muña", "queshua muña", "yurac muña", "papa kuru muña"

Se expide la presente certificación, para fines de investigación del recurrente.

Cusco, 6 de mayo 2013



Prof. Dr. Víctor Moina Gallegos
Prof. Investigador Asociado al Herbario Vargas (CUZ)

ANEXO Nº 02

CONSTANCIA DE ANÁLISIS POR CROMATOGRAFIA DE GASES DE LOS ACEITES ESENCIALES



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS Y MATEMÁTICAS
LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRÍA - Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855 - 944045605

CONSTANCIA DE ANÁLISIS

El que suscribe, Responsable del Laboratorio de Cromatografía de la Facultad De Ciencias Químicas, Físicas, Matemáticas, Farmacia e Informática de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, deja Constancia.

Que Bach. Víctor Moína Gállegos, de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica, ha presentado al Laboratorio de Cromatografía dos muestras de aceite esencial denominados "Arrayan" *Luma chequen (Molina) A. Gray* y "Yuraq muña" *Minthostachys spicata (Benth). Epling*, para su caracterización e identificación de sus componentes, como parte de su proyecto de investigación titulado "Actividad Antibacteriana in Vitro de Colutorios Elaborados con aceites esenciales de *Luma chequen (Molina) A. Gray* "Arrayan" y *Minthostachys spicata (Benth). Epling* "Yuraq muña" frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175". Dicho material ha sido caracterizado utilizando el Cromatógrafo de Gases Agilent 6890N, acoplado a un Espectrómetro de Masas. La identificación se basó en la comparación de las señales del espectro de masas de cada componente con los datos compilados en la librería NIST08a.L. (Wiley) y Flavor v2

Se expide la siguiente constancia a solicitud del interesado para los fines que vieran por conveniente.

Cusco, 21 de Enero del 2014




Jorge Choquesalva Parí
C.C.P. Nº 014

ANEXO N° 03

CONSTANCIA DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS ACEITES ESENCIALES

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

• APARTADO POSTAL
N° 921 - Cusco - Perú

• FAX: 238156 - 238173 - 222512

• RECTORADO
Calle Tigre N° 127

Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398

• CIUDAD UNIVERSITARIA
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 -
222512 - 232370 - 232375 - 232226

• CENTRAL TELEFÓNICA: 232398 - 252210
243835 - 243836 - 243837 - 243838

• LOCAL CENTRAL
Plaza de Armas s/n

Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015

• MUSEO INKA

Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380

• CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA

San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246

• COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"

Av. De la Cultura N° 721

"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192

ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE ACEITES ESENCIALES

PRODUCTO : Aceites Esenciales

DISTRITO : Cusco

PROVINCIA : Cusco

DEPARTAMENTO : Cusco

SOLICITANTE : Bach. Víctor Moína Gallegos.

FECHA DE CONCLUSIÓN DEL ANÁLISIS: 6 de Agosto del 2014.

RESULTADOS:

CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS	ACEITES ESENCIALES	
	<i>Luma chequen</i> (<i>Feuillée ex Molina</i>) A. Gray "Arrayan"	<i>Minthostachys spicata</i> (Benth.) <i>Epling</i> "Yuraq muña"
Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas ufc/ml.	Negativo	Negativo
Salmonella	Negativo	Negativo
Coliformes Fecales (<i>E.coli</i>)	Negativo	Negativo
Hongos y Levaduras ufc/ml.	Negativo	Negativo

METODOLOGÍA :

Se siguió la metodología recomendada por las Norma Sanitaria de Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano indicado por la DIGESA.

CONCLUSIÓN :

Las muestras analizadas de los aceites esenciales de *Luma chequen* (*Feuillee ex Molina*) A. Gray "Arrayan" y de *Minthostachys spicata* (Benth.) Epling "Yuraq muña" de acuerdo a los criterios analizados, el producto no presenta microorganismos patógenos indicando que la higiene en el proceso de la extracción de los aceite esencial es eficiente desde el punto de vista microbiológico. Los resultados se encuentran dentro de los límites de aceptación de los criterios de alerta- límites críticos e indicativos de higiene aprobados por el Ministerio de Salud-Resolución Ministerial N° 615-2003-SA/DM.

Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Dra. Hedy Y. Espinoza Carrasco
DOCENTE DEL ÁREA DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

ANEXO N° 04

CONSTANCIA DE ANALIS MICROBIOLÓGICO DE COLUTORIOS ELABORADOS CON ACEITES ESENCIALES Y COLUTORIOS COMERCIALES

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

• APARTADO POSTAL
N° 921 - Cusco - Perú

• FAX: 238156 - 238173 - 222512

• RECTORADO
Calle Tigre N° 127

Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398

• CIUDAD UNIVERSITARIA

Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 -
222512 - 232370 - 232375 - 232226

• CENTRAL TELEFÓNICA: 232398 - 252210
243835 - 243836 - 243837 - 243838

• LOCAL CENTRAL

Plaza de Armas s/n
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015

• MUSEO INKA

Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380

• CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA

San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246

• COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"

Av. De la Cultura N° 721

"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192

ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE ENJUAGUES BUCALES ELABORADOS Y COMERCIALES

MUESTRA : Enjuagues bucales elaborados y comerciales

DISTRITO : Cusco

PROVINCIA : Cusco

DEPARTAMENTO : Cusco

SOLICITANTE : Víctor Moina Gallegos.

FECHA DE CONCLUSIÓN DEL ANÁLISIS: 6 de Agosto del 2014

RESULTADOS:

ENJUAGUES BUCALES	CRITERIOS BACTERIOLÓGICOS			
	Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas ufc/ml.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ufc/ 1ml.	<i>Staphylococcus aureus</i> ufc/ 1ml.	Coliformes Totales
COLUTORIOS ELABORADOS				
Aceite esencial de <i>Luma chequen</i> (<i>Feuillée ex Molina</i>) A. Gray "Arrayan"	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Aceite esencial de <i>Luma chequen</i> (<i>Feuillée ex Molina</i>) A. Gray "Arrayan" y <i>Minthostachys spicata</i> (Benth.) Epling "Yuraq muña"	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Benth.) Epling "Yuraq muña"	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Sin Aceite esencial	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
COMERCIALES				
Listerine	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Dento	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Colgate	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

METODOLOGÍA:

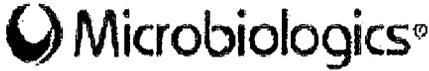
Se siguió la metodología recomendada por la Norma de Farmacopea de Estados Unidos de América USP 36, NF 31 y los criterios microbiológicos de la Comunidad Andina con Resolución N° 1418.

CONCLUSIÓN:

Las muestras analizadas de los enjuagues bucales elaborados (Colutorio elaborado con aceite esencial de *Luma chequen* (*Feuillée ex Molina*) A. Gray "Arrayan", Colutorio elaborado con aceite esencial de *Luma chequen* (*Feuillée ex Molina*) A. Gray "Arrayan" y *Minthostachys spicata* (Benth.) Epling "Yuraq muña", Colutorio elaborado con aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Benth.) Epling "Yuraq muña"), Colutorio negativo elaborado sin aceite esencial y de las muestras de enjuagues bucales comerciales (Listerine, Dento, Colgate) no presenta patógenos desde el punto de vista bacteriológico, por lo tanto se indica que la higiene en el proceso es eficiente. Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites de aceptación de los criterios Microbiológicos según la Comunidad Andina Resolución N° 1418.

ANEXO N° 05

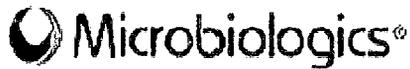
**CERTIFICADO DE LA CEPA BACTERIANA DE *Streptococcus mutans*
ATCC 25175.**



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Streptococcus mutans</i> Catalog Number: E255 Lot Number: 265-19 Reference Number: ATCC® 25175™ Purity: < 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4		Expiration Date: 2014/09 Release Information: Quality Control Technologist: Carol J Stanoch Release Date: 2/12/12S
Performance		
Macroscopic Features: Two colony types, small, circular, dome shaped, entire edge, white and the other is small, circular and translucent.		Medium: SEAP
Microscopic Features: Small gram positive coccid to ovoid cells occurring singly, in pairs and predominantly in chains		Method: Gram Stain(1)
Vitek GP (1)		Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative
Phenotypic Features	Results	
D-AMYGDALIN	+	
PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C	-	
D-XULOSE	-	
ARGININE DIHYDROLASE 1	-	
BETA-GALACTOSIDASE	+	
ALPHA-GLUCOSIDASE	+	
Ala-Pro-ARYLAMIDASE	-	
CYCLODEXTRIN	-	
L-Aspartate ARYLAMIDASE	-	
BETA GALACTOPYRANOSIDASE	-	
ALPHA-MANNOSIDASE	-	
PHOSPHATASE	-	
Leucine ARYLAMIDASE	+	
L-Proline ARYLAMIDASE	-	
BETA GLUCURONIDASE	-	
ALPHA-GALACTOSIDASE	+	
L-Pyruvate-ARYLAMIDASE	-	
BETA-GLUCORONIDASE	-	
Alanine ARYLAMIDASE	+	
Tyrosine ARYLAMIDASE	-	
D-SORBITOL	+	
UREASE	-	
POLYMYXIN B RESISTANCE	+	
D-GALACTOSE	+	
D-RIBOSE	-	
L-LACTATE alkalinization	-	
LACTOSE	+	
N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	+	
D-MALTOSE	+	
BACITRACIN RESISTANCE	+	
NOVOBIOCIN RESISTANCE	+	
GROWTH IN 6.5% NaCl	-	
D-MANNITOL	+	
D-MANNOSE	+	
METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	-	
FULLULAN	-	
D-RAFFINOSE	+	
ON129 RESISTANCE (comp. vitro.)	+	
SALICIN	+	
SACCHAROSE/SUCROSE	+	
D-TREHALOSE	+	
ARGININE DIHYDROLASE 2	-	
OPTOCHIN RESISTANCE	+	

Brad Goskowicz, President
AUTHORIZED SIGNATURE



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Streptococcus mutans</i> Catalog Number: C255 Lot Number: 556-19 Reference Number: ATCC® 25175™ Purity: < 0.1% Total Peptid CFU Recovery: > 1001 CFUs per Petal Passage from Reference: 4	Expiration Date: 2012/12 Release Information: Quality Control Technologist: Carol J Stanoch Release Date: 2012/12/5
---	---

Disclaimer: The last eight(s) of the lot number appearing on the packaging is/are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Users: Although the Vials panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazardously information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiologies, Inc. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

TESTING CERT #2655.01

ANEXO N° 06

FICHA DE RECOLECCIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL

Especie Vegetal: <i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.Gray "Arrayán"	
Fecha:/...../..... Hora::.....:.....	
CARACTERÍSTICAS	DETALLES
Nombre científico:	<i>Luma chequen</i> (Feuilleé ex Molina) A.Gray
Nombre Común:	Arrayán
Familia	Myrtaceae
Genero	<i>Luma</i>
Especie	<i>L. chequen</i>
Característica principal
Descripción general
Lugar de recolección
- Región	Cusco
- Provincia	Calca
- Distrito	Pisacc
- Comunidad	Ampay
Altitud	2 950 m.s.n.m.
Temperatura	8 °C
Partes usadas	
- Raíz ()	- Flores (X)
- Tallo ()	- Frutos ()
- Hojas (X)	- Corteza ()
Recolector	Br: Victor MOINA GALLEGOS
OBSERVACIONES	
.....	
.....	
.....	
.....	
.....	

ANEXO N° 07

FICHA DE RECOLECCIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL

Especie Vegetal: <i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling "Yuraq muña"	
Fecha:/...../..... Hora::.....:.....	
CARACTERÍSTICAS	DETALLES
Nombre científico:	<i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling
Nombre Común:	"Yuraq muña"
Familia	<i>Lamiaceae</i>
Genero	<i>Minthostachys</i>
Especie	<i>Minthostachys spicata</i> (Benth). Epling.
Característica principal
Descripción general
Lugar de recolección	
- Región	Cusco
- Provincia	Cusco
- Distrito	San Sebastián
- Comunidad	Pumamarca
Altitud	4100 m.s.n.m.
Temperatura	10 °C
Partes usadas	
- Raíz ()	- Flores (X)
- Tallo ()	- Frutos ()
- Hojas ()	- Corteza ()
Recolector	Br: Victor MOINA GALLEGOS
OBSERVACIONES	
.....	
.....	
.....	
.....	
.....	

ANEXOS N° 08

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA CURVA DE CRECIMIENTO DE
Streptococcus mutans ATCC 25175

ESPECIE	TIEMPO (Minutos)	ABSORVANCIA (Abs)
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175		

Fuente: Datos Experimentales.

ANEXO Nº 09
FICHA DE RECOLECCION DE HALOS DE INHIBICION DE LOS ACEITES ESENCIALES

Fecha:/...../.....

Hora::.....:.....

HALOS DE INHIBICION (mm) DE LOS ACEITES ESENCIALES FRENTEN A *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Nº	Concentración del Aceite Esencial en (mg/500uL)	Aceite esencial de "ARRAYAN" <i>Luma chequen (Feuilleé ex Molina) A.Gray</i>				Aceite Esencial "YURAQ MUÑA" <i>Minthostachys spicata (Benth). Epli.</i>			
		I (mm)	II (mm)	III (mm)	PROMEDI O (mm)	I (mm)	II (mm)	III (mm)	PROMEDI O (mm)
1	5								
2	10								
3	15								
4	25								
5	50								
6	75								
7	100								
8	125								
9	150								
10	175								
11	200								
12	225								
13	250								
14	275								

Fuente: Elaboración Propia.

Leyenda: I, II, III = Número de pruebas.

ANEXO Nº 10

FICHA DE RECOLECCION DE HALOS DE COLUTORIOS ELABORADOS CON ACEITE ESENCIALES Y COLUTORIOS COMERCIALES

		Colutorios Elaborados				Colutorios de Comparación		
		A	B	C	C-	D	E	F
Organolépticas	Color							
	Olor							
	Sabor							
	Apariencia							
Fisicoquímicas	Densidad							
	Índice de Refracción							
	Ph							
Microbiológicas	Aerobios Totales							
	Coniformes Totales							
	Mohos y Levaduras							

Fuente: Elaboración Propia.

Leyenda:

A: Colutorio elaborado con aceite esencial de Arrayan

B: Colutorio elaborado con aceite esencial de Yuraq muña

C: Colutorio elaborado con aceite esencial de 50% Arrayan Y 50% Yuraq muña

C-: Colutorio elaborado sin aceites esenciales

ANEXO N° 11

CALDO DE CEREBRO CORAZON. (Brain Heart Infution)

Indicaciones:

Para el cultivo de diversos microorganismos patógenos exigentes.

Características:

Adecuado para el cultivo de diversas bacterias exigentes.

También se utiliza para la preparación de inóculos para el uso en la susceptibilidad a los antimicrobianos.

Composición:

Caldo de cerebro 200mg

Caldo de corazón 250mg

Glucosa 2.0mg

Cloruro de sodio..... 5.0mg

Hidrogeno fosfato disodico 2.5mg

PH: $7.4 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ a 25°C .

Preparación:

Disolver 37mg en 1000 ml de agua destilada y esterilizar en autoclave por 15 minutos a 121°C .

FUENTE: Extraído de las etiquetas de Medios de cultivo MerK.

ANEXO N° 12

AGAR MULLER HINTON

Indicaciones:

Para el ensayo de la sensibilidad, para ensayo de resistencia de agentes patógenos, clínicamente importantes frente a antibióticos y sulfamidas, para la realización del ensayo de difusión en placas, para mejorar de forma considerable el crecimiento de microorganismos exigentes, puede añadirse agar sangre al agar Muller Hinton.

Características:

La composición de estos medios de cultivo garantiza, por una parte, condiciones favorables de crecimiento y por otra parte, cuneta con la ausencia, muy considerable, de antagonistas de las sulfamidas.

Composición:

Carne de infusión..... 2.0g
Ácido hidrolizado de caseína..... 17,5 g
Agar..... 13.0g
Almidón..... 1,5 g

PH: 7.4 ± 0.2 a 25°C.

Preparación:

Disolver 34gr en 1000ml de agua destilada, estéril con cuidado en autoclave durante 15 minutos a 122°C, enfriar eventualmente a 45-50°C posteriormente verter en placas petri dejar endurecer. Para pruebas de control de calidad de la muestra, incubar a 37°C por 24 horas, posteriormente queda listo para ser utilizada.

FUENTE: Extraído de las etiquetas de Medios de cultivo Merk.

ANEXO N° 13

AGAR SANGRE

Indicaciones:

Es un medio de uso general que permite el crecimiento tanto de microorganismos exigentes como no exigentes, que incluyen bacterias aerobias y anaerobias, aunque no es medio de elección para anaerobios. Permite visualizar reacciones hemolíticas que producen muchas especies bacterianas.

Características:

Tiene por base una fuente proteica (digeridos trépticos, digeridos proteicos de soja) con una pequeña cantidad de hidratos de carbono naturales, cloruro sódico y 5% de sangre.

Composición:

Digerido pancreático de caseína 15.0 g

Digerido papaico de haba de soja 5.0 g

Cloruro Sódico 5.0 g

Agar 15.0 g

Factores de crecimiento 1.5 g

Sangre desfibrinada de carnero 50.0 ml

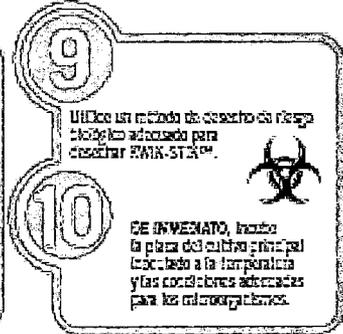
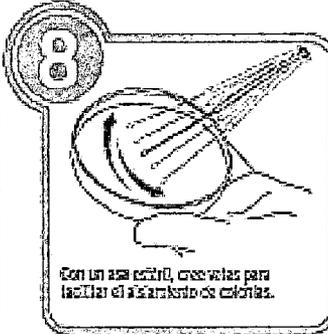
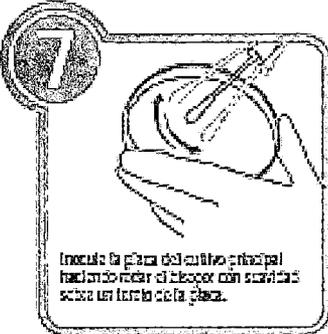
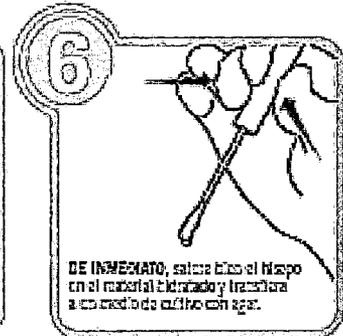
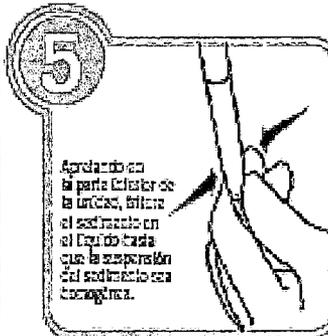
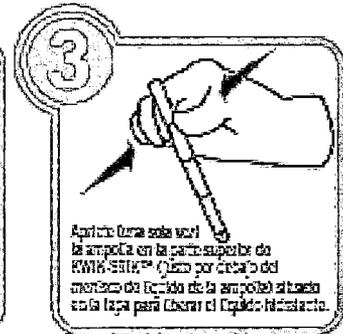
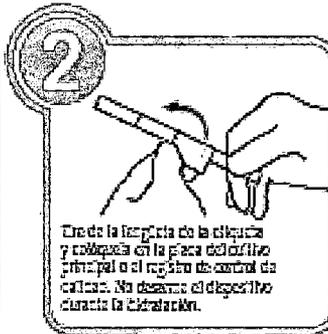
FUENTE: Extraído de las etiquetas de Medios de cultivo Merk

ANEXO N° 14

PROCEDIMIENTO PARA ACTIVACION DE LA CEPA BACTERIANA.

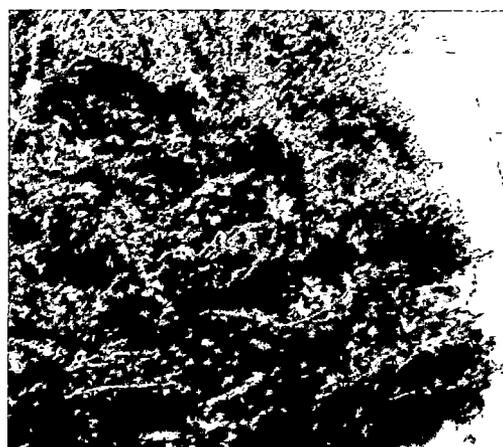
INSTRUCCIONES ILUSTRADAS

Las preparaciones de microorganismos KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ Plus contienen un sedimento flofificado de una única cepa de microorganismos.

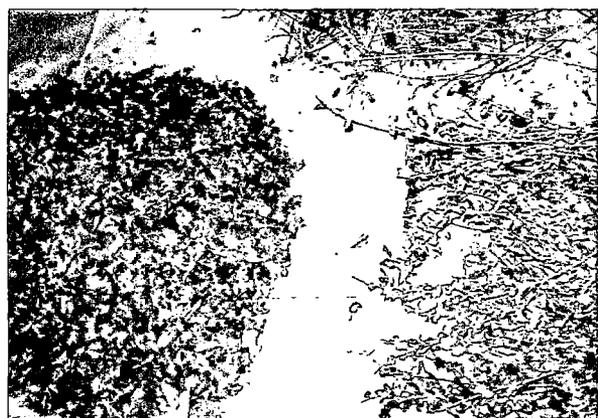


 **Microbiologics®**
A safer, healthier world.

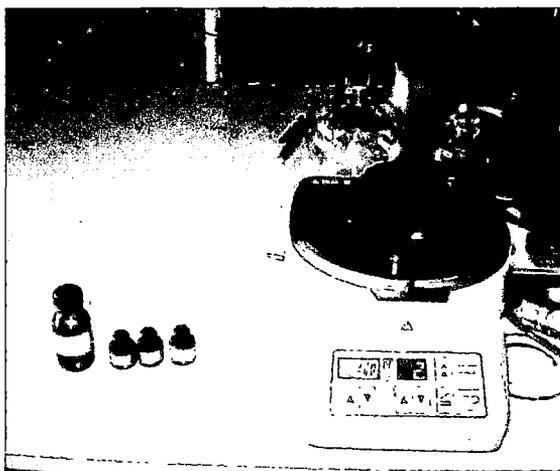
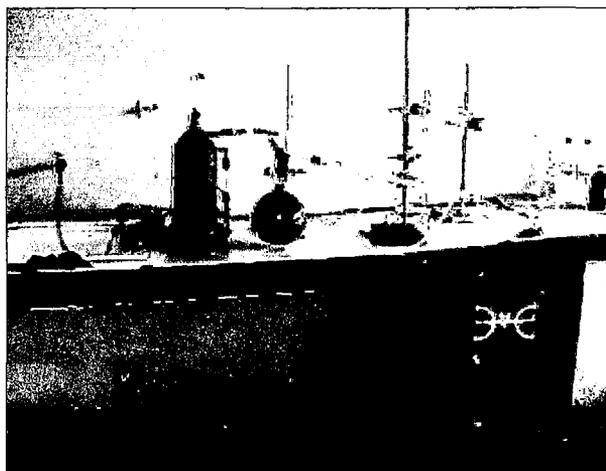
ANEXO Nº 15
ARCHIVO FOTOGRAFICO



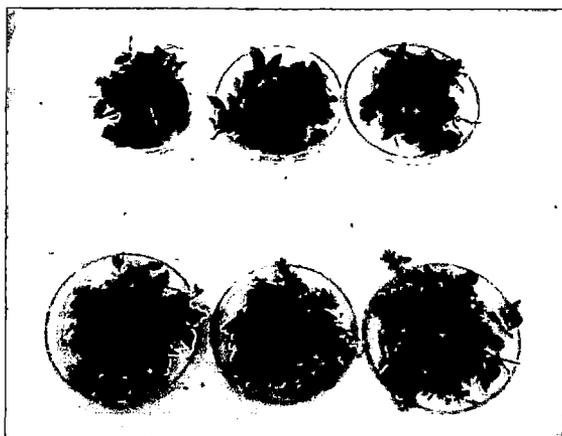
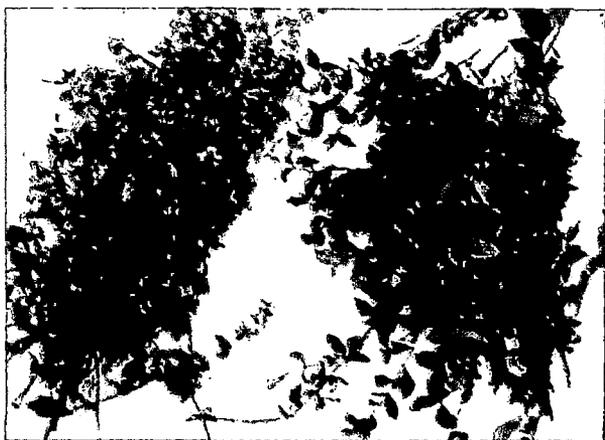
Fotografía Nº 01 y Nº 02: Hojas y tallos de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "ARRAYÁN" y *Minthostachys spicata* "YURAQ MUÑA" en el proceso de secado.



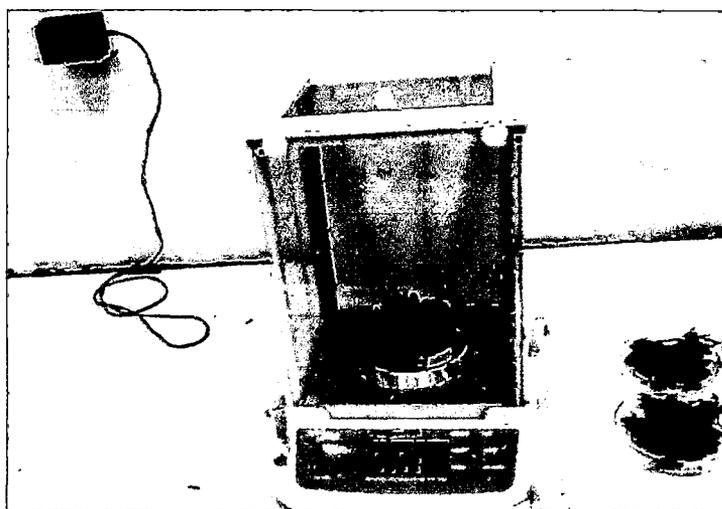
Fotografía Nº 03 y Nº 04: Hojas y tallos de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "ARRAYÁN" y *Minthostachys spicata* "YURAQ MUÑA" en el proceso de selección.



Fotografía Nº05 y Nº 06: Obtención de aceites esenciales por el método de arrastre por vapor y proceso de secado del aceite esencial.



Fotografía N°07 y N° 08: Selección y preparación de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "ARRAYÁN" y *Minthostachys spicata* "YURAQ MUÑA" en la determinación de la humedad por triplicado.



Fotografía N°09: Pesado de las especies vegetales en la determinación de la humedad.



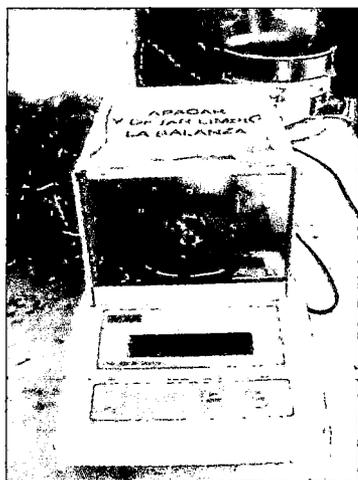
Fotografía N°10: Secado de las especies vegetales por triplicado en la determinación de la humedad.



Fotografía N°11 y N°12: Preparación de materiales, equipos y muestras de aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "ARRAYÁN" y *Minthostachys spicata* "YURAQ MUÑA" en la determinación de la densidad de los aceites esenciales.



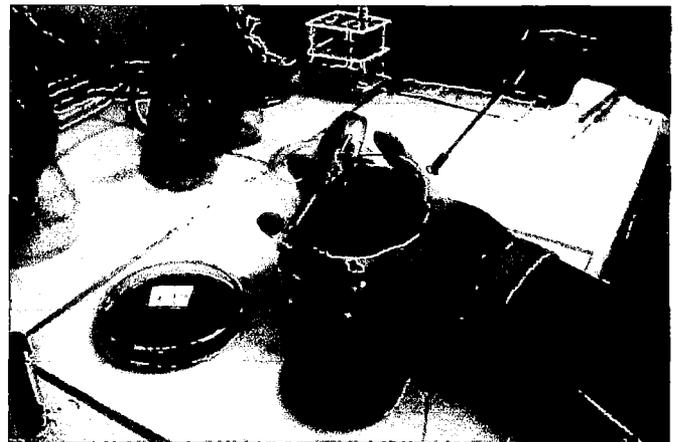
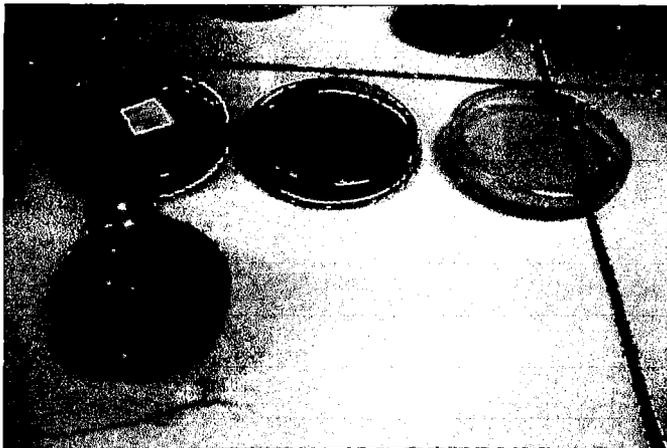
Fotografía N°13 y N° 14: Aforo de los aceites esenciales en los respectivos picnómetros en la determinación de la densidad de los aceites esenciales.



Fotografía N°15 y N°16: Pesado de los aceites esenciales en la determinación de la densidad de los aceites esenciales



Fotografía N°17 y N°18: Preparación de la cepa bacteriana de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 para la activación



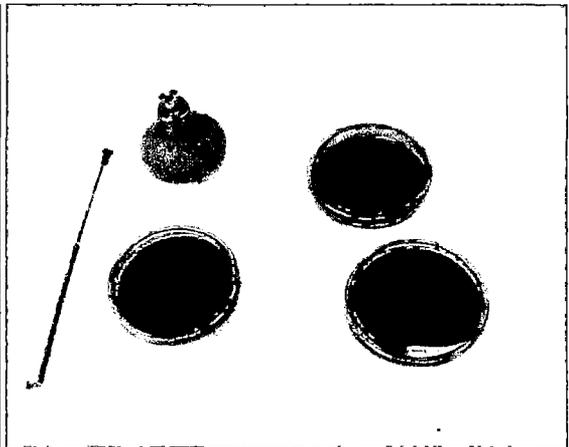
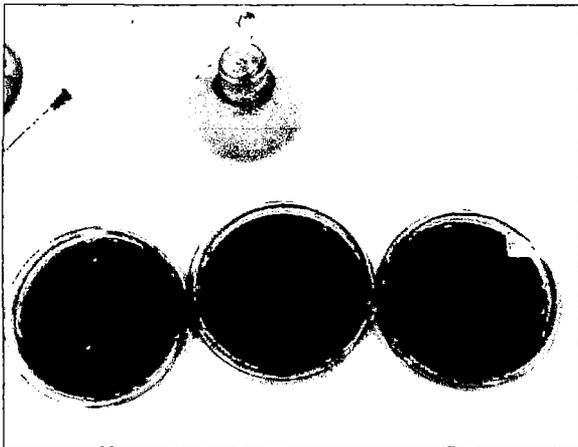
Fotografía N°19 y N°20: Activado de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en agar sangre.



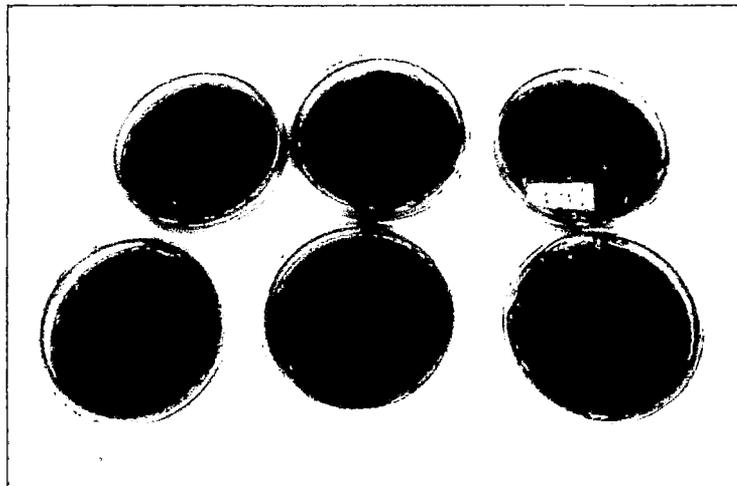
Fotografía N°21: Cepa bacteriana activada de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en agar sangre.



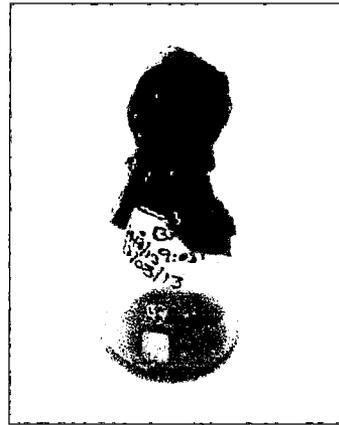
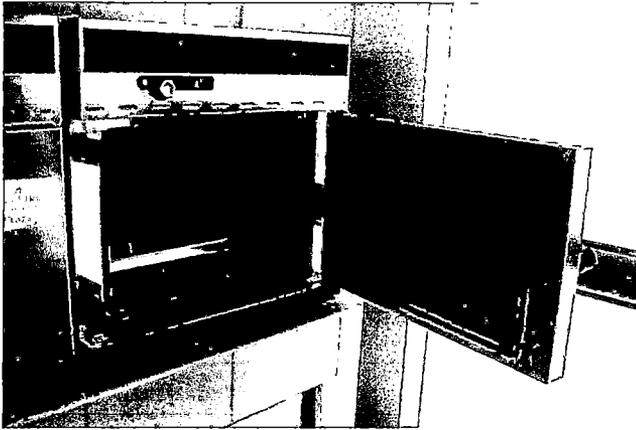
Fotografía N°22 y N°23: Preparación de los materiales para el plan de mantenimiento de la cepa activada de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en agar sangre.



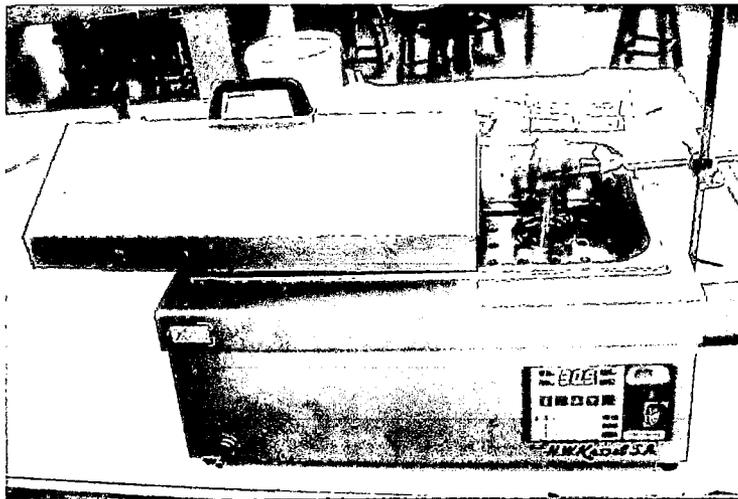
Fotografía N°23 y N°24: Selección de placas de cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en agar sangre, para el plan de mantenimiento



Fotografía N°25: Placas de cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 activadas y placas en mantenimiento.



Fotografía N°26 Y N°27: Preparación de caldo BHI de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 para el proceso de grafica de la curva crecimiento bacteriano.



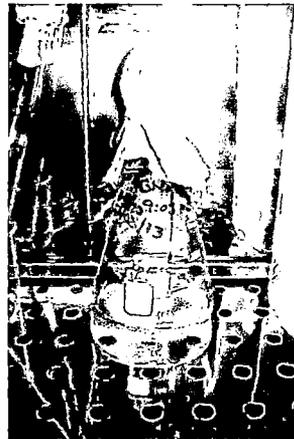
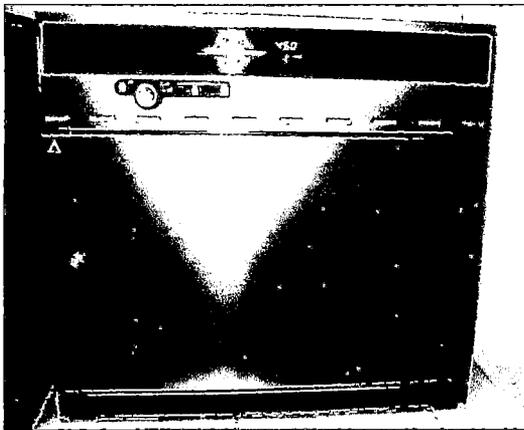
Fotografía N°28: Mantenimiento en baño maria de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 para el proceso de grafica de la curva crecimiento bacteriano.



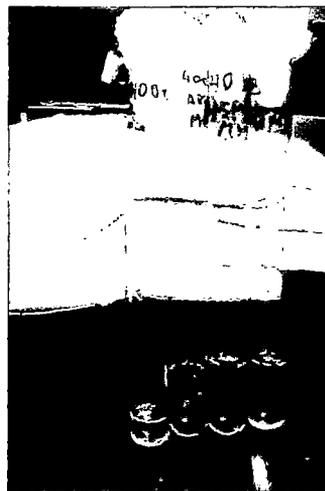
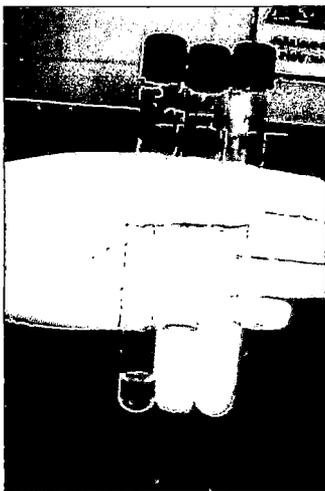
Fotografía N°29: Lectura en UV de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 para el proceso de grafica de la curva crecimiento bacteriano.



Fotografía N°30: Lectura en UV de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 para el proceso de grafica de la curva crecimiento bacteriano.



Fotografía N°31 y N°32: Caldo BHI de cepa bacteriana de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 para el proceso de evaluación de CMI.



Fotografía N°33 y N°34: observación de diluciones de aceites esenciales para el proceso de evaluación de CMI.



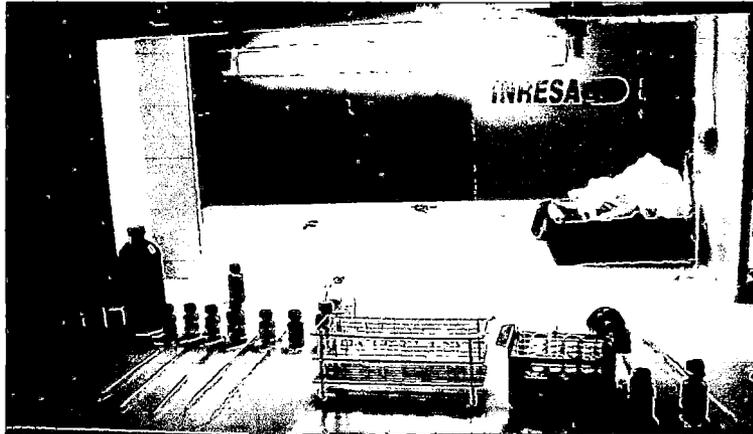
Fotografía N°35: Conteo de UFC de la dilución con aceite esencial de *Minthostachys spicata* "YURAQ MUÑA" para el proceso de evaluación de CMB.



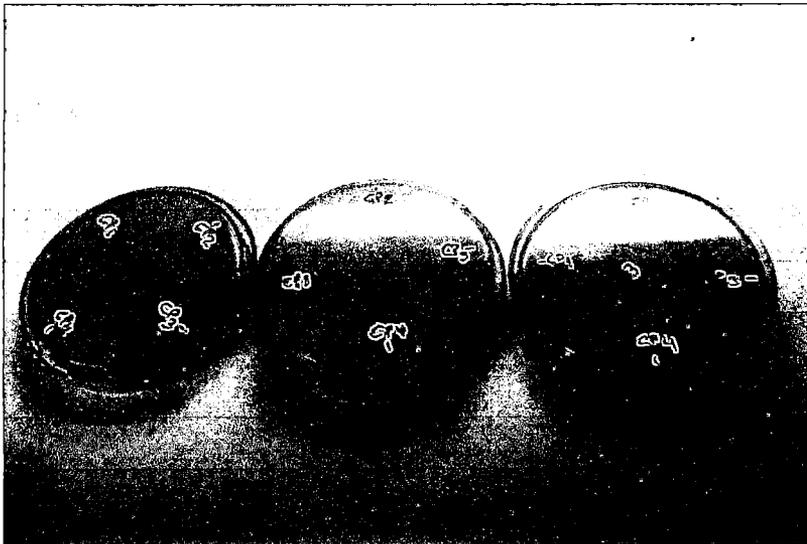
Fotografía N°36: Conteo de UFC de la dilución con aceite esencial de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "ARRAYÁN" para el proceso de evaluación de CMB.



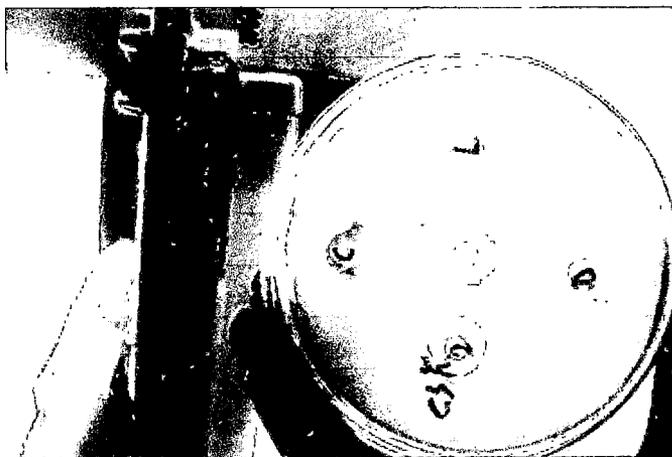
Fotografía N°37: Conteo de UFC de la dilución con aceite esencial de *Luma chequen* (Feuilleé ex Molina) A.Gray "ARRAYÁN" para el proceso de evaluación de CMB.



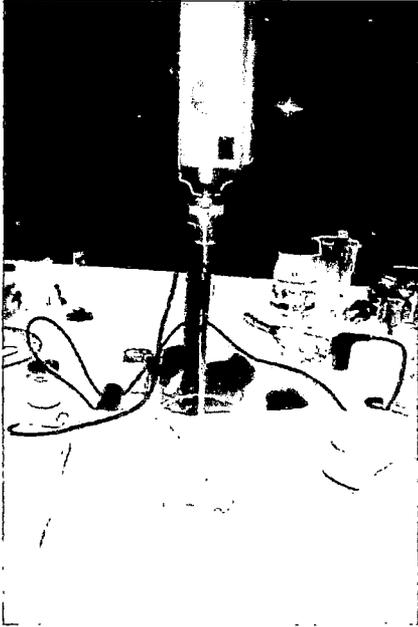
Fotografía N°38: Preparación de materiales para el proceso de evaluación de CMI.



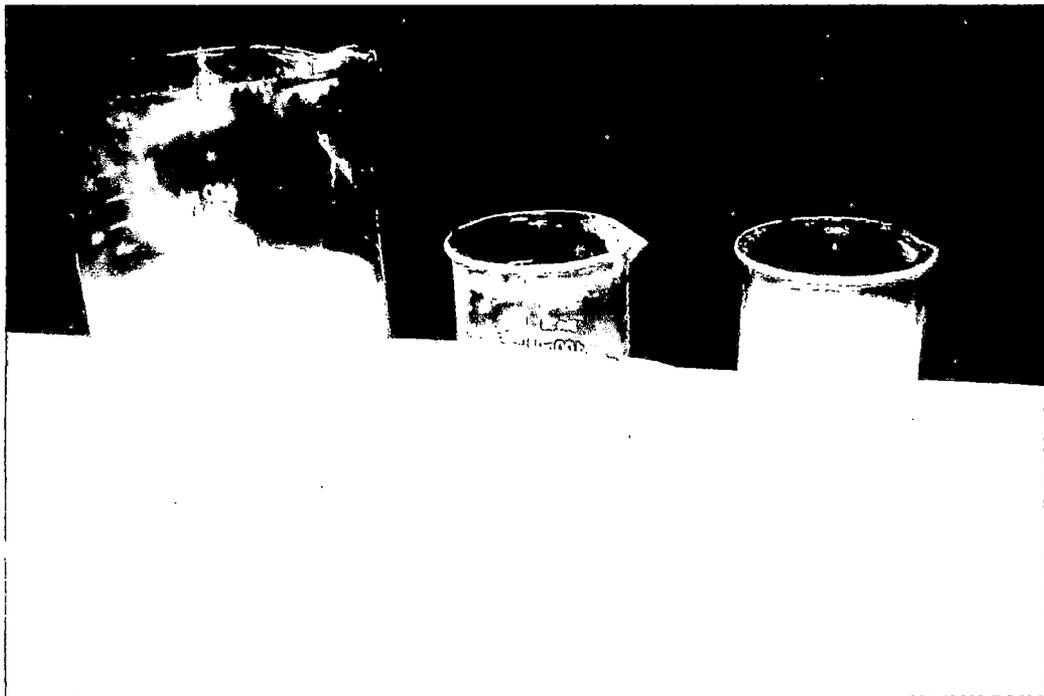
Fotografía N°39: preparación y marcado de las placas para evaluar el proceso de evaluación de CMI.



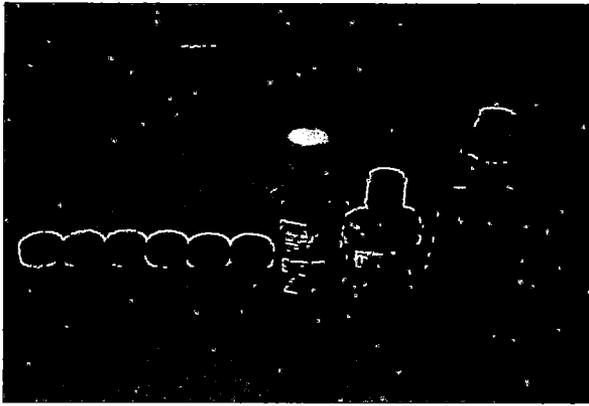
Fotografía N°40: Medida de los halos de inhibición bacteriana en el proceso de evaluación de CMI.



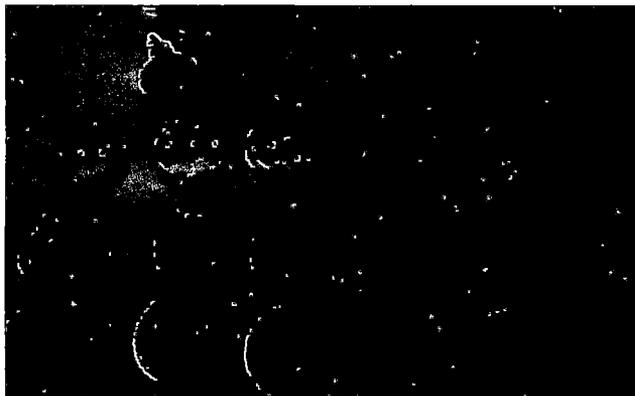
Fotografía N°41 y N°42: Elaboración de colutorios con aceites esenciales de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "ARRAYÁN" y *Minthostachys spicata* "YURAQ MUÑA".



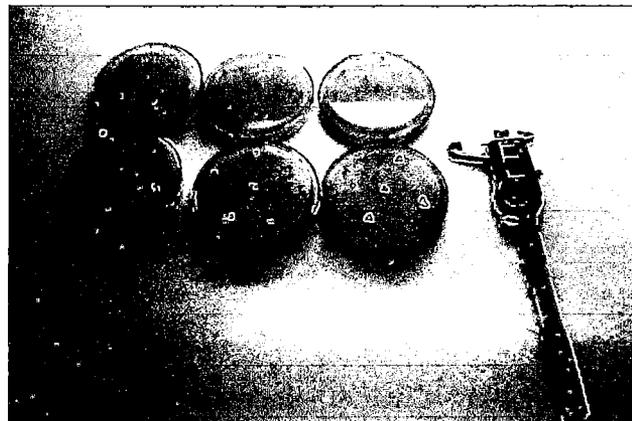
Fotografía N°41 y N°42: Evaluación de las características de los colutorios elaborados con aceites esenciales de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "ARRAYÁN" y *Minthostachys spicata* "YURAQ MUÑA".



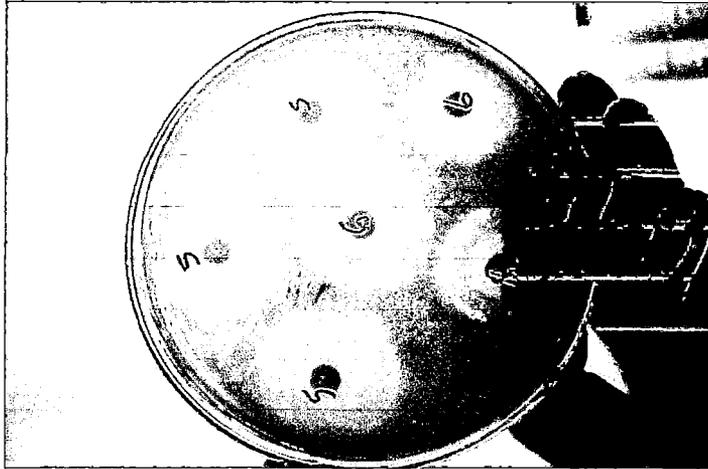
Fotografía N°43 y N°44: Preparación de los colutorios elaborados con aceites esenciales y colutorios de comparación y rotulado de las placas para el proceso de evaluación de CMI.



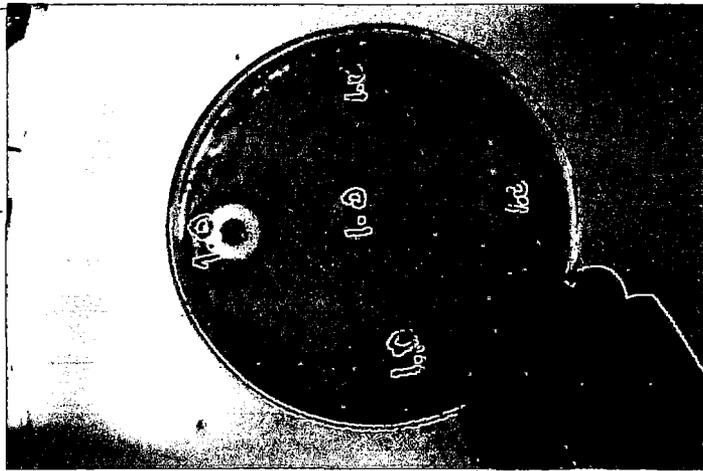
Fotografía N°45: Siembra de la cepa bacteriana de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 para el proceso de evaluación de CMI.



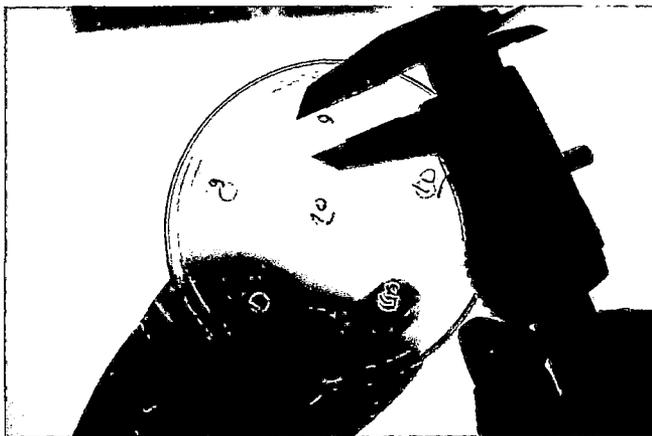
Fotografía N°46: Cultivo de las placas con los discos de inhibición de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 Y preparación de los materiales para la medición de los halos de ambición para el proceso de evaluación de CMI.



Fotografía N°47: Medida de los halos de inhibición de los colutorios de comparación en el proceso de evaluación de CMI.



Fotografía N°48: Medida de los halos de inhibición de los colutorios elaborados con aceites esenciales de *Luma chequen* (*Feuilleé ex Molina*) A.Gray "ARRAYÁN" en el proceso de evaluación de CMI.



Fotografía N°49: Medida de los halos de inhibición de los colutorios elaborados con aceites esenciales de *Minthostachys spicata* "YURAQ MUÑA" en el proceso de evaluación de CMI.