

UNIVERSIDAD PRIVADA DE TACNA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGIA



“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO
DE Plantago major (LLANTÉN) SOBRE EL Streptococcus mutans (ATCC
25175), IN VITRO TACNA 2020”

Presentado por:

Antony Enrique Tello Salgado

Asesor: Mg. Esp. Marco A. Sánchez Tito

Tesis para Optar el Título Profesional de:

Cirujano Dentista

Tacna - 2020

DEDICATORIA

A mi madre por su infinita paciencia y amor demostrado a lo largo de estos años y por su bondad y ternura para saber corregir y darme fortaleza.

A mi padre por siempre dar lo mejor de él, por estar ahí siempre que necesitaba su ayuda y consejos.

A mi querido hermano por sus palabras de aliento y confianza, siempre diciéndome lo que necesitaba escuchar para nunca rendirme.

A mi amada Rosalba por el infinito amor y ternura que siempre demuestra y por ser mi refugio ante los distintos problemas de la vida.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por las distintas bendiciones que puedo recibir de él y de su hijo Jesucristo.

A mi Asesor Mag. C.D. Esp. Marco Sánchez Tito por su valiosa paciencia, asesoría y consejos brindados en la realización del presente trabajo.

A mis queridos amigos Axel, Mirella, Rosaluz, Sergio, Carlos, Gisela, Lucianne, Henry, Sandra y Kati que siempre están en los momentos que más los necesito.

ÍNDICE

RESUMEN	08
ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN	12
CAPÍTULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	15
1.1 FUNDAMENTACIÓN DEL PROBLEMA	15
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	16
1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	16
1.3.1 OBJETIVO GENERAL	16
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
1.4 JUSTIFICACIÓN	17
CAPÍTULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	19
2.2 MARCO TEÓRICO	23
2.2.1 <i>PLANTAGO MAJOR</i> (LLANTÉN)	23
2.2.1.1 SINONIMIA	23
2.2.1.2 HISTORIA	24
2.2.1.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	24
2.2.1.4 USO MEDICINAL	25
2.2.1.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA	26
2.2.1.5.1 TERPENOS	27
2.2.1.5.1 SAPONINAS TERPENOIDALES.....	27
2.2.1.6 PROPIEDADES	28
2.2.1.6.1 ANTIINFLAMATORIO	28
2.2.1.6.2 ASTRINGENTE.....	28

2.2.1.6.3 HEMOSTÁTICA Y CICATRIZANTES	29
2.2.1.6.4 ANTIBACTERIANAS	29
2.2.1.7 CONTRAINDICACIONES	30
2.2.2 STREPTOCOCCUS DEL GRUPO MUTANS	30
2.2.2.1 GENERO STREPTOCOCCUS	30
2.2.2.2 CLASIFICACIÓN	31
2.2.2.2.1 TIPO DE HEMOLISIS	31
2.2.2.2.2 ESTRUCTURA ANTIGÉNICA	31
2.2.2.3 STREPTOCOCCUS DEL GRUPO MUTANS.....	32
2.2.2.4 CARACTERÍSTICAS	32
2.2.3 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD	33
2.2.3.1 TIPOS	33
2.2.3.2 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA.....	34
2.2.3.3 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD MEDIANTE DIFUSIÓN.....	34
2.2.3.4 MÉTODO DE DIFUSIÓN CON DISCOS (KIRBY BAUER)	35
2.2.3.5 HALO DE INHIBICIÓN	36
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS, VARIABLES Y DEFINICIONES OPERACIONALES	37
3.1 HIPÓTESIS	37
3.2 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	37
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	39
4.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	39

4.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN	39
4.3 ÁMBITO DE ESTUDIO	40
4.4 POBLACIÓN Y MUESTRA	41
4.4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN	41
4.5 PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	42
4.5.1 COORDINACIÓN	42
4.5.2 PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	42
4.5.3 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE LOS DATOS	42
4.5.4 FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS	43
4.5.5 INSTRUMENTOS	43
4.5.5.1 EQUIPOS	43
4.5.5.2 MATERIAL DE VIDRIO	44
4.5.5.4 OTROS	44
CAPÍTULO V: PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS DE DATOS	47
5.1 RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA	47
5.1.1 RECOLECCIÓN DEL PLANTAGO MAJOR	47
5.1.2 EXTRACTOS ACUOSO	47
5.1.2.1 Preparación del extracto acuoso.....	48
5.1.3 EXTRACTO ETANÓLICOS	48
5.1.3.1 Preparación del extracto etanólico.....	49
5.1.3.2 Preparación las diferentes concentraciones del extracto etanólico	49
5.1.4 CLORHEXIDINA	50
5.2 OBTENCIÓN DE LA CEPA DE STREPTOCOCCUS MUTANS	51
5.3 EVALUACIÓN DE LOS AGENTES ANTIBACTERIANOS	51

5.3.1 PREPARACIÓN DE LA CEPA	52
5.3.2 PREPARACIÓN DE LOS DISCOS	52
5.3.3 DISTRIBUCIÓN DE DISCOS EN LAS PLACA INOCULADAS.....	53
5.3.4 LECTURA	53
5.4 CROMATOGRFÍA	54
CAPÍTULO VI: RESULTADOS	55
CAPÍTULO VII: DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	64
7.1 DISCUSIÓN	64
7.2 CONCLUSIONES	67
7.3 RECOMENDACIONES	68
BIBLIOGRAFÍA.....	69
ANEXOS	73

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico y acuoso del *Plantago major* (llantén) frente a *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) ATCC 25175. **Material y método:** El estudio fue de tipo experimental in vitro, mediante el uso de 16 placas petri para realizar el cultivo del *Streptococcus mutans*. El extracto acuoso de llantén (EAL) se obtuvo mediante dilución en agua destilada durante 15 días. El extracto etanólico de llantén (EEL) se obtuvo mediante maceración en alcohol al 70% durante el mismo tiempo y posteriormente filtrado y diluido con agua destilada para obtener concentraciones de 100%, 75 %, 50 % y 25 % a diferencia del EAL el cual se trabajó en una sola concentración de 100%. Ambos extractos fueron sometidos a cromatografía en capa fina para identificar sus componentes químicos. La actividad antibacteriana se evaluó mediante la prueba de difusión en disco sobre medio Brain Heart infusion agar (BHA) inoculado con *S. mutans* ATCC 25175. Se empleó clorhexidina (CHX) al 0,12 % como control positivo y agua destilada para el control negativo. Las placas fueron incubadas durante 48 horas a 37 °C en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se realizó la medición de los halos de inhibición con un compás Vernier calibrado. **Resultados:** Los resultados mostraron que el EEL presenta como principales componentes terpenos, di-terpenos, saponinas terpenoidales y aceites esenciales, mientras que en los resultados del EAL se observaba la presencia de terpenos. No existe efecto antibacteriano significativo del EAL sobre el *S. mutans* ATCC 25175. Según la escala de Duraffourd y Lapraz, al utilizar una concentración de 20 µL de EEL se observó al 100 % halos de inhibición de 11,91 mm, al 75 % halos de 8,05 mm y al utilizar una concentración de 25 µL se presentan al 100 % halos de inhibición de 12,29 mm, al 75 % halos de 10,68 mm, al 50 % halos de 10,41 mm y al 25 % halos de 9,37 mm sobre el *S. mutans* ATCC 25175. **Conclusiones:** No existe efecto antibacteriano significativo del

extracto acuoso y etanólico del *Plantago major* sobre el *S. mutans* ATCC 25175. Sólo se demuestra que la capacidad antibacteriana del EEL es muy escasa, mientras que en el EAL es nula comparada a la clorhexidina al 0,12 % (sensibilidad media) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)

PALABRAS CLAVE: Agente antibacteriano, *Plantago major*, *Streptococcus mutans*, clorhexidina.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antibacterial effect of the ethanolic and aqueous extract of *Plantago major* (plantain) against *Streptococcus mutans*. (*S. mutans*) ATCC 25175. **Material and method:** The study was experimental in vitro, using 16 petri dishes for the cultivation of *Streptococcus mutans*. The aqueous extract of llanten (EAL) was obtained by dilution in distilled water for 15 days. The ethanolic extract of llanten (EEL) was obtained by maceration in 70 % alcohol for the same time and subsequently filtered and diluted with distilled water to obtain concentrations of 100 %, 75 %, 50 % and 25 %, unlike the EAL which was worked in a single concentration 100%. Both extracts were subjected to thin layer chromatography to identify their chemical components. Antibacterial activity was evaluated by means of the disk diffusion test on Brain Heart infusion agar (BHA) medium inoculated with *S. mutans* ATCC 25175 0.12% chlorhexidine (CHX) was used as positive control and distilled water for negative control. The Plates were incubated for 48 hours at 37 °C under microaerophilic conditions. Subsequently, the measurement of the inhibition halos was performed with a calibrated Vernier compass. **Results:** The results showed that the EEL presents as main components terpenes, di-terpenes, terpenoids, saponins and essential oils, while in the results of the EAL the presence of terpenes was observed. There is no significant antibacterial effect of EAL on *S. mutans* ATCC 25175. According to the Duraffourd and Lapraz scale, when using a concentration of 20 µL of EEL, 100 % inhibition halos of 11.91 mm were observed, at 75 % halos of 8.05 mm and when using a concentration of 25 µL, there are 100 % inhibition halos of 12.29 mm, 75 % halos of 10.68 mm, 50 % halos of 10.41 mm and 25 % 9.37 mm halos on *S. mutans* ATCC 25175. **Conclusions:** There is no significant antibacterial effect of the

aqueous and ethanolic extract of *Plantago major* on *S. mutans* ATCC 25175. It is only shown that the antibacterial capacity of EEL is very low, while in EAL it is null compared to 0.12 % chlorhexidine (medium sensitivity) on *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)

Keywords: Antibacterial agent, *Plantago major*, *Streptococcus mutans*, *chlorhexidine*

INTRODUCCIÓN

El *Plantago major* es una planta originaria de América, Asia y África (1). Es conocido también como llantén, Plantago, lantén, entre otros (2). El llantén se utiliza ampliamente como remedio natural ya que posee propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, antihemorrágicas, astringentes y cicatrizante debido a sus componentes químicos (1).

Las propiedades de esta planta son resultado de la interacción de las distintas sustancias y de la capacidad de autorregulación. Se han observado la presencia de ácidos, como el oléico, linoléico (semillas), cítrico, caféico, salicílico, ferúlico, clorogénico, planteólico y ácidos fenólicos tales como el ácido siríngico, phidrocibenzoico, gentísico, phidroxifenilacético. También presenta azúcares, tales como la fructuosa, sorbitos y sacarosa. Observamos alcaloides del tipo de indicaína y plantagonina. Flavonoides como la noscapina, luteolina y nepetina. Un aminoácido el cual es la apigenina (presente en las hojas). Además de diversas sustancias tales como tanino, proteínas, vitamina C, mucilagos, potasio y glucósidos cromogénicos como el catapo y aucubina (1).

El principio activo de más relevancia encontrado en la planta es la aucubigemina, esta proviene de sustancias inactivas como polímeros de este compuesto y de la aucubina. Cuando esta sustancia realiza el proceso de catabolismos, se forma un dialdehído que tiene efecto bactericida, ya que logra desnaturalizar las proteínas de ciertos microorganismos. Además compuestos como la plantamajosida y la acteosida fortalecen este efecto (3).

Constantemente en la cavidad oral encontramos múltiples microorganismos, los cuales se mantienen en homeostasis, sin embargo, es muy frecuente encontrar una pérdida de este equilibrio, lo cual tiene como resultado el comienzo de múltiples enfermedades presentes en la cavidad oral (4). La principal afección que se encuentra en el ser humano es la caries dental, la cual se considera una de las enfermedades multifactoriales con más prevalencia y se define como la destrucción de los tejidos duros de la pieza dental por acción bacteriana (5). La bacteria encargada de metabolizar el azúcar en boca y de mayor importancia en esta enfermedad es el *Streptococcus mutans*, el cual a partir de la azúcar metabolizada produce ácido láctico, este genera desmineralización en el tejido dentario, al poseer un PH de 3.8, siendo crítico para los tejidos dentarios y propicio para la colonización de bacterias sobre la superficie de los dientes. (1).

El *S. mutans* es un microorganismo formado por cocos Gram positivos, con forma oval de 1 a 1,5 μm de diámetro (6). Estos microorganismos no poseen catalasa y son anaerobios facultativos. Estos microorganismos son considerados parte de la microbiota normal, sin demostrar alguna patogenicidad, mientras otros presentan un comportamiento saprófito o incluso patógeno (7).

Frente al problema de la caries dental se ha decidido optar tratamientos o métodos para controlar y prevenir el avance, dolor y la pérdida de las piezas dentarias en los pacientes. Uno de los métodos más comunes es el uso de los enjuagues bucales o colutorios, que entre sus componentes principales podemos hallar a la clorhexidina, pues es considerado el antiséptico más efectivo y con una utilización amplia. Logrando obtener una reducción de la placa en un 60 %. Su

mecanismo de acción se realiza mediante una reducción de la formación de la película adquirida y alteración del desarrollo bacteriano y de la inserción al diente (8). Al poseer principios químicos, se observan alteraciones en la flora oral y resistencia a este agente.

Por ende, se realiza la investigación sobre el *Plantago major* con el fin de conocer si esta fuente natural, propia de la región de Tacna, presenta actividad antibacteriana sobre el *S. mutans*.

Siendo el objetivo principal, poder determinar el grado de actividad antibacteriana del *Plantago major* en una presentación acuosa y etanólica, en distintas concentraciones, sobre el *Streptococcus mutans*.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 FUNDAMENTACIÓN DEL PROBLEMA

“La caries dental es considerada una disbiosis, la cual se manifiesta debido al consumo elevado de azúcares fermentables. La disbiosis consiste en la alteración en el equilibrio y de la proporción de los múltiples microorganismos presentes en la flora oral” (9).

La frecuencia en el consumo de azúcares, es el factor etológico con gran impacto en la caries dental. El azúcar es metabolizada por las bacterias que se encuentran en la cavidad bucal, principalmente el *Streptococcus mutans* y la patogenicidad dependerá de las propiedades individuales o de la interacción que tenga con otras bacterias (biopelícula). Los ácidos orgánicos serán el producto del metabolismo, estos son los responsables de la desmineralización en el órgano dental, pero esto estará condicionado a otros factores como la cantidad de la saliva o la calidad de la estructura dentaria. Si hay una interacción de manera coordinada de estos factores etiológicos, el resultado final que se obtendrá será la pérdida del tejido orgánico del diente, iniciando un proceso carioso dental (10).

Ante esta problemática, se ha realizado diversas investigaciones evaluando las propiedades antibacterianas de algunos productos, de procedencia natural, contra uno de los agentes responsables de la caries dental, es decir, el *Streptococcus mutans*.

“El Plantago major (llantén) presentan acciones astringentes, analgésicas, depurativas, expectorantes y cicatrizantes” (11). Además, se han realizado estudios los cuales afirman que esta planta presenta

un efecto antibacteriano sobre el *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces Viscosus*, *Streptococcus Mutans* y *Prevotella Melaninogenica*. En el cual podemos observar que el *Plantago major* a 25 µg/mL presento un leve actividad frente a estos microorganismos, obteniendo mejores resultado que el alcohol etílico, pero menor que el de la clorhexidina al 0,12%.

Con esta investigación se pretender identificar si es que el *Plantago major* posee capacidad antibacteriana sobre el *S. mutans*, con la finalidad de utilizarlo para la prevención de la caries dental.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿El extracto acuoso y etanólico de *Plantago major* (llantén) presentará actividad antibacteriana sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en un estudio in vitro?

1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Conocer el efecto antibacteriano del extracto acuoso y etanólico del *Plantago major* (llantén) sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Plantago major* (llantén) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.
- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) al 25 %, 50 %, 75 % y 100 % sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.
- Comparar la capacidad antibacteriana de las distintas concentraciones del extracto etanólico y acuoso del *Plantago*

major frente a la clorhexidina al 0,12 % sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

1.4 JUSTIFICACIÓN

Frente al problema de la caries dental se ha decidido optar tratamientos o métodos para controlar y prevenir el avance, dolor y la pérdida de las piezas dentarias en los pacientes.

Uno de los métodos más comunes en el control de microorganismos de importancia estomatológica es el uso de los enjuagues bucales o colutorios, con principios activos de origen químico (12). Lo que hace que su costo sea elevado y en algunos casos generan efectos secundarios como la alteración de la flora oral y resistencia microbiana, es por eso que se plantea agregar sustancias naturales, comunes en nuestra región, como componentes para los enjuagues bucales.

Por ello, el presente trabajo es favorable ante esta problemática, ya que se investiga fuentes naturales propias de nuestra región que contrarresten la actividad bacteriana del *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Asimismo, se visualiza gran relevancia social en el presente trabajo porque se sabe que la mayor población afectada por la caries dental son los niños y jóvenes, sin embargo, en general se ve afectada la salud bucal de toda persona en cualquier etapa de su vida. Esto es un gran problema porque la salud bucal es la base de la salud, considerando que la boca interviene en la alimentación y en el contagio de múltiples enfermedades.

Por ello, el efecto antibacteriano de la sustancia estudiada contribuirá en la salud del sistema estomatognático, y por ende se logrará una buena calidad de vida y buena salud; entendida por la ausencia de enfermedades bucales, limitaciones en la capacidad propias de este sistema y al tiempo que repercutirán en el bienestar psicosocial de la persona.

CAPÍTULO II

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.2 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Rivera BB. “Efecto de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos hidroalcohólico a base de llantén (*Plantago major*) y té verde (*Camellia sinensis*), a la concentración del 25 %, 50 % y 100 % sobre *Streptococcus mutans*. Arequipa : Universidad Católica de Santa María; 2015 (13). El trabajo es de carácter experimental, en el cual se buscó analizar la capacidad antibacteriana de los extractos hidroalcohólico del té verde y del llantén sobre el *Streptococcus Mutans*. Como resultado se obtuvo que el extracto de *Plantago major* muestra un resultado de inhibición de 7,48 mm aproximadamente al 25 %, de 7,97 mm aproximadamente al 50 % y de 9,57 mm al 100 %. La conclusión de este estudio fue que el *Plantago major* si posee capacidad antibacteriana en una concentración de 100 %, ya que en las concentraciones de 25 % y 50 % no se apreciaba una gran diferencia.

Alvarado VA, Moroni H. “Plantas medicinales: Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major* I, *Erythroxylum novogranatense*, *Plowman var truxillensey*, *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica”. *Odontol. sanmarquina*. 2010; 13(2): 21-25 (14). Se realizó una investigación de tipo experimental, con el objetivo de evaluar los efectos antibacterianos de un grupo de plantas sobre 5 organismo, entre los cuales se encontraba el *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), el método de difusión en discos fue el que se utilizó. Se obtuvo un extracto hidroalcohólico mediante maceración alcohólica, con

alcohol etílico al 70 %. Se trabajó con dos concentraciones de 25 µg/mL y 50 µg/mL. Como resultado se observó que el efecto antibacteriano del *Plantago major* sobre el *Streptococcus mutans* fue de 7,6 mm en la concentración de 25 µg/ml y de 8,8 mm en la concentración de 50 µg/mL. Como grupo control se trabajó con la clorhexidina al 0,12 % y esta lograba halos de 22 mm. Como conclusión se obtuvo que el *Plantago major* tiene capacidad antimicrobiana sobre el *Streptococcus mutans*, pero no un efecto mayor que la clorhexidina al 0,12 %.

Eduardo AP, Juárez MD, Morante VN, Tejero PP. “Efecto antibacteriano in vitro de los extractos hidroetanólicos de *Prosopis pallida* (algarrobo), *Ruta graveolens* (ruda), *Plantago major* (llantén) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 35668).” Piura: Universidad Cesar Vallejo; 2018 (15). Se realizó un trabajo de carácter experimental y corte transversal con presencia de un grupo control, con el objetivo de evaluar la capacidad antibacteriana de los extractos hidroetanólicos del *Prosopis pallida* (algarrobo), *Ruta graveolens* (ruda) y el *Plantago major* (llantén) sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Se trabajó con 10 concentraciones de los extractos mencionados y un grupo control de clorhexidina al 0,12 % (PerioAid). Se realizó el método de difusión en discos para comprobar la eficacia antibacteriana. Los resultados obtenidos del extracto de *Plantago major* en una concentración de 900 µg/ml indicaban un halo de 18 mm y en la concentración de 1000 µg/ml un halo de 22 mm. Teniendo como conclusión que el *Plantago major* tiene un efecto antibacteriano.

Borja VV. "Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), extracto de llantén (*Plantago major* L.) Y la combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*". Quito: Universidad Central de Ecuador; 2017 (16).

Se realizó un trabajo de tipo experimental, en la cual se buscó evaluar la capacidad antibacteriana de los extractos de *Matricaria chamomilla* (manzanilla), de *Plantago major* (llantén) y la mezcla de ambos sobre la cepa de *Porphyromona gingivalis*. Esta investigación fue realizada sobre 30 cultivos bacterianos. Los resultados obtenidos en este estudio relejaron una capacidad de inhibición de los tres extractos frente a la *Porphyromona gingivalis*, con halos de 10,2 mm para el extracto de *Matricaria chamomilla*, de 12,47 mm para el extracto de *Plantago major* y de 16,57 mm para el extracto de dichas plantas combinadas, demostrando así su capacidad inhibitoria. Como conclusión se indica la capacidad inhibitoria de ambas plantas sobre la *Porphyromona gingivalis* y su efecto potenciado al usarlas juntas.

Pachamango LV. "Efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Plantago major* (llantén) y del PerioAid 0,12% sobre *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586)". Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2016 (17). Se realizó un trabajo de tipo experimental, cuyo propósito fue establecer la capacidad antibacteriana del *Plantago major* sobre el *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586) en concentraciones de 50 % y 75 %, además se tuvo un grupo control de clorhexidina al 0,12 % (PerioAid). Como resultado a la prueba de susceptibilidad, se obtuvo que el extracto etanólico del *Plantago major* al 75 % tuvo halos de 10 mm y la clorhexidina al 0,12% presento halos de 13,6 mm. Se indica también

que el extracto etanólico al 50 % y 75 % tuvieron efectos inhibitorios parecidos. Como conclusión se indica que el extracto etanólico del *Plantago major* al 75 % tiene efecto antibacteriano similar al de la clorhexidina al 0,12 % sobre el *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586)

Crisanto AA, Reaño RC. “Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* (llantén) frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, por el método de difusión en disco y macrodilución”. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2016 (18). Fue un trabajo de tipo experimental, el cual tuvo como propósito evaluar la actividad antibacteriana en el extracto Etanólico de *Plantago major*, mediante macrodilución y difusión en disco, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Como resultados del extracto de *Plantago major* se observaron halos de inhibición de 20,3 mm a una concentración de 20 mL y 12 mg y los resultados de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de hojas de *Plantago major* fueron de 1 mg/ml para *Staphylococcus aureus* y de 4 mg/ml para *Pseudomonas aeruginosa*.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 *PLANTAGO MAJOR* (LLANTÉN)

El *Plantago major* “llantén” se considera una planta natural de Centroamérica, Norteamérica, Asia occidental y norte de África donde esta crece en lugares mayormente incultos, terraplenes, taludes y baldíos (2).

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliosida
- Orden: Lamiales
- Familia: Plantaginaceae
- Género: *Plantago*
- Especie: *Plantago major* L.
- Nombre común: Llantén

2.2.1.1 SINONIMIA

Llantén, lanté, llantén mayor o común (España). También se conoce como landen, lante, paletarea, orejas de burro, plantago, lanty, cancerina, yantén, diantén, lanter, lengua de vaca, llanté y mucilago (2).

2.2.1.2 HISTORIA

Esta especie de origen en Asia y Europa, ubicándose generalmente en regiones con climas fríos y templados. Crece a lo largo de casi toda Europa, África del norte, Asia occidental y América del Norte; en cuanto a América Latina, es una planta que se puede hallar fácilmente y crece en zonas de césped, muy cerca de lugar de cultivos y al costado de los caminos (1).

2.2.1.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

El *Plantago major* es una hierba que es de la división Magnoliophyta, clase Magnoliosida, orden Lamiales y pertenece a la familia *Plantaginaceae*. Es una planta que tiene un tiempo de vida de 6 meses. Tiene una altura que varía entre los 10 cm a 35 cm, sin embargo, su largo puede variar dependiendo el distinto lugar en que esta se desarrolle.

- El tallo de *Plantago major* es un rizoma pequeño de color amarillento, llega medir 20 cm de longitud en una planta desarrollada.
- Las raíces tienen un color blanco y de tamaño uniforme, las cuales se originan del tallo subterráneo.
- Las hojas tienen una forma ovalada, con un tono verde y se adhieren al tallo por un largo pecíolo,

poseen aprox. 60 cm de longitud y un grosor de 22 cm en plantas desarrolladas.

- Las flores tienen un tono café-verdoso, su corola es de color amarillento y muy pequeña (4 mm aprox.), las anteras son color lila, al comienzo, y luego se vuelven amarillas.
- Los pedúnculos florales crecen del punto de donde arrancan los pecíolos, y tienen una longitud mayor (1).

2.2.1.4 USO MEDICINAL

Se usa muy comúnmente como un remedio casero. Posee propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, antihemorrágicas y astringente, además de poseer también capacidad cicatrizante ante lesiones, tanto externas como internas. En cuanto al sistema respiratorio, posee distintos usos. Es muy eficaz para poder tratar enfermedades tales como la tos, bronquitis, faringitis, laringitis, dolor de garganta e inflamación glandular.

El compuesto de mayor relevancia es la aucubigenina (derivado de la aucubina) y se piensa que este compuesto es el que le brinda el efecto antibacteriano que posee la planta (1).

2.2.1.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA

Las propiedades curativas del *Plantago major* no solo se deben a una única sustancia, sino a la interacción de múltiples de ellas. Los efectos son resultado de la interacción de las múltiples sustancias y de su capacidad de autorregulación (1).

Se ha descubierto la presencia de ácidos, como el oléico, linoléico (semillas), cítrico, salicílico, ferúlico, clorogénico, planteólico. Dentro de los ácidos fenólicos podemos observar los ácidos siríngico, phidrocibenzoico, cafeico, gentísico, phidroxifenilacético y ferúlico.

Azúcares, tales como la fructuosa, sorbitol y sacarosa. Presenta alcaloides tales como la indicaína y plantagonina. Flavonoides como la noscapina, luteolina y nepetina. Un aminoácido el cual es la apigenina (presente en las hojas). También presenta diversas sustancias tales como tanino, proteínas, vitamina C, mucilagos, potasio y un glucósido cromogénico llamado catapo y otro llamado aucubina (3).

El principio activo de más relevancia encontrado en la planta es la aucubigenina, la cual proviene de sustancias inactivas como polímeros de este compuesto y de la aucubina. Cuando esta sustancia realiza el proceso de catabolismos, se forma un

dialdehído que tiene efecto bactericida, el cual logra desnaturalizar las proteínas de algunos microorganismos.

En el presente estudio se observó la presencia de terpenos, di terpenos, saponinas terpenoidales y aceites esenciales.

2.2.1.5.1 TERPENOS

Los terpenos son metabolitos secundarios sintetizados por vegetales y químicamente son derivados del isopreno, que se polimerizan bajo la acción enzimática de dos o más unidades; se clasifican de acuerdo al número de unidades de isopreno ensambladas en hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterterpenos, triterpenos y tetraterpenos. Los terpenos, pueden encontrarse en fuentes vegetales libres o formando glucósidos (especialmente los triterpenos) en cuyo caso son llamados saponinas (19).

2.2.1.5.2 SAPONINAS TERPENOIDALES

Son glicósidos cuya aglicona consiste en un núcleo esteroidal o triterpénico; esta característica estructural les confiere un carácter anfótero que les permite actuar como

tensioactivos. Aprovechando esta propiedad, las dos pruebas más empleadas en la detección de saponinas son la de hemólisis y la de formación de espuma, puesto que al ser tensioactivas las saponinas inestabilizan la membrana celular de los microorganismos, induciendo su ruptura (20).

2.2.1.6 PROPIEDADES

2.2.1.6.1 ANTIINFLAMATORIO

Las hojas del *Plantago major* poseen componentes con cualidades antiinflamatorias, como la baicaleína, plantamajosida, aucubina, hispidulina, ácido oleanólico y ursólico. La cadena larga de alcoholes primarios que se encuentran presentes en las hojas del llantén ayudan a tratar las heridas más superficiales (1).

2.2.1.6.2 ASTRINGENTE

El *Plantago major* posee cualidades astringentes debido a que este contiene taninos, los cuales ayudan a controlar la diarrea.

Es muy útil en la colitis, enterocolitis y reduce el dolor, en algunos casos, causado por úlceras gástricas (1).

2.2.1.6.3 HEMOSTÁTICA Y CICATRIZANTES

La propiedad cicatrizante y hemostática que posee el *Plantago major* es por su gran presencia de taninos y su alto contenido en alantoína.

La alantoína tiene como característica motivar la regeneración de las células epidérmicas, razón por la cual este componente es usado mucho en la industria cosmética.

El *Plantago major* posee su actividad hemostática gracias a que logra aumentar la coagulación en la sangre en heridas. Esta propiedad puede ser muy efectiva para poder sanar heridas que se dan a nivel cutáneo, no obstante, también se usa en heridas más internas que se pueden dar al romper las venas o capilares (1).

2.2.1.6.4 ANTIBACTERIANAS

La aucubigenina, que es un derivado de la aucubina, es el compuesto con mayor importancia y se considera que es el encargado del efecto antibacteriano que posee el llantén, ya que se encarga de desnaturalizar las proteínas de algunos microorganismos.

Otro compuesto como la acteosida y la plantamajosida le otorga propiedades bacterianas (1).

2.2.1.7 CONTRAINDICACIONES

El *Plantago* mayor está contraindicado en la etapa del embarazo y lactancia, debido a que aún no se logró demostrar una seguridad en estos casos, consultar con el médico, es ideal para su uso. Tampoco es muy recomendado el uso en pacientes que tienen problemas de estreñimiento, debido a que el *Plantago major* posee taninos que ejercen una acción astringente, lo que complica esta enfermedad (21).

2.2.2 STREPTOCOCCUS DEL GRUPO MUTANS

2.2.2.1 GENERO STREPTOCOCCUS

Está conformado por cocos grampositivos, con forma oval o esférica, de 1 a 1,5 μm de diámetro, suelen encontrarse en pares o en cadenas (6).

Estos microorganismos no poseen catalasa y son en su mayoría anaerobios facultativos. Representan un gran grupo de microorganismos, que en su mayoría, se considera parte de la microbiota común, sin mostrar alguna alteración, otros tendrán un comportamiento saprófito o incluso patógeno.

2.2.2.2 CLASIFICACIÓN

Los Estreptococos se pueden clasificar según varios criterios:

2.2.2.2.1 TIPO DE HEMOLISIS

Por su comportamiento en las placas de agar-sangre, pueden ser:

- β -Hemolíticos o hemolíticos, se observa una zona de hemólisis completa alrededor de la colonia; esto debido al hemólisis total de los glóbulos rojos.
- α -Hemolíticos o viridans, se produce una zona parcial de hemólisis, con una decoloración color verdoso.
- γ -Hemolíticos o no hemolíticos, no se observa hemólisis (6).

2.2.2.2.2 ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

De acuerdo a la función que presentan los antígenos, se dividen en Streptococcus agrupables y no agrupables que pueden o no carecer de antígenos. El carácter de los grupos nos permitirá obtener serogrupos de Lancefield denominados con letras "a" hasta "w" (7).

2.2.2.3 STREPTOCOCCUS DEL GRUPO MUTANS

Estos microorganismos fueron descritos en el año de 1924 por Clarke, a partir de caries presente en dentina. Su habitat se encuentra en la superficie dentaria. Los altos niveles de azúcares en la dieta favorecen a una mayor presencia de biofilm dental (22).

Su nombre se debe a que cuando se realiza la coloración de Gram, se tiende a observar estructuras más ovaladas que redondeadas, que es la forma típica de los Streptococcus, por lo que se consideró que estas bacterias eran “mutantes”.

Están constituidos por las especies *S. rattus*, *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. macacae*, *S. downei* y *S. ferus*. El *Streptococcus mutans* ha sido clasificado dentro de 9 serotipos diferentes, designados con letras desde la “a” hasta la “g”, mediante reacciones serológicas (7).

2.2.2.4 CARACTERÍSTICAS

- Microorganismos genéticamente heterogéneos.
- Son cocos grampositivos, no esporulados.
- Son resistentes a la fagocitosis.

- Se disponen en forma de cadenas.
- Diámetro variable entre 0,5 a 0,75 milimicras.
- No poseen movimiento, no tienen de flagelos.
- Carecen de capsula y polisacárido C.
- Son catalasa- negativos.
- Anaerobios facultativos o estrictos (utiliza el oxígeno del medio ambiente para su metabolismo, pero suelen sobrevivir en ausencia total de este).
- Son fermentadores.
- Pueden lograr un pH crítico lo cual desmineraliza el esmalte, más rápido que otras bacterias.
- A partir de sacarosa producen polisacáridos extracelulares.
- Producen ácido láctico a partir de los azúcares.
- Coloniza en la superficie de los dientes.

2.2.3 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD

2.2.3.1 TIPOS

- Detección enzimática: Los microorganismos presentan algunas enzimas las cuales les otorgan resistencia.

- Difusión: Podremos obtener datos cualitativos, ya que clasificara a los microorganismos en sensibles, intermedios y resistentes a un agente antimicrobiano.
- Dilución: Nos otorgara datos cuantitativos (23).

2.2.3.2 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA

- Según la capacidad de respiración en la bacteria:
 - Antibiogramas para organismos aerobios.
 - Antibiogramas para organismos anaerobios.
- Según el medio empleado y la forma de incorporación del agente microbiano:
 - Antibiograma por dilución.
 - En un medio solido
 - En un medio liquido
 - Antibiograma por difusión
 - En un medio solido

2.2.3.3 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD MEDIANTE DIFUSIÓN

Es el método con más uso en la microbiología, se realiza por difusión en agar y logra proporcionar datos más precisos y exactos (24).

- **Fundamento y método:** Consiste en colocar el antibiótico en un disco, este se difundirá por el medio, produciendo un gradiente de concentración. A medida que nos alejamos del lugar del disco, la concentración empezará a disminuir. La distancia en la cual se logra una inhibición del crecimiento del microorganismo inoculado en el medio se denominará halo de inhibición.
- **Inoculo y medio:** Se obtienen 4 o 5 colonias y se cultivan en caldo, ajustando el inóculo en la escala de McFarland al 0,5. La suspensión se deberá inocular con una torunda estéril escurrida alrededor de toda la placa que contiene el agar. Luego se seca de 3 a 5 min.
- **Discos con antibiótico:** se añadirá con el uso de una pinza estéril. Los discos deben presentar una separación de 20 mm de distancia. Estos deberán estar almacenados en un ambiente de 2 a 8°C, siguiendo las indicaciones del fabricante.
- **Lectura:** Se deberá medir el halo formado en milímetros y se procederá a interpretar en función del antibiótico y los microorganismos.

2.2.3.4 MÉTODO DE DIFUSIÓN CON DISCOS (KIRBY BAUER)

El método de difusión en agar con discos está determinado para poder medir la sensibilidad de un

agente antimicrobiano frente a un antibiótico. Esta prueba es validada por el National Comite for clinical laboratory standars (NCCCLS) (21). El objetivo se basa en determinar el diámetro que se genera alrededor del disco de papel que se encuentra impregnado con el antibiótico. El disco debe poseer una cantidad específica del antimicrobiano. El antimicrobiano logra difundir desde el disco al medio de cultivo generando una zona de inhibición en la cual la concentración más crítica de antimicrobiano logra inhibir el crecimiento bacteriano (24).

2.2.3.5 HALO DE INHIBICIÓN:

El halo de inhibición es la distancia en la que se logra la inhibición del crecimiento del microorganismo en el medio. El diámetro logrado dependerá de factores como: el medio de cultivo utilizado, cantidad de microorganismo y el tiempo de incubación.

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS, VARIABLES Y DEFINICIONES OPERACIONALES

3.1 HIPÓTESIS

H1: El extracto acuoso y etanólico del *Plantago major* (llantén) presenta efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans*.

H0: El extracto acuoso y etanólico del *Plantago major* (llantén) no presenta efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans*.

3.2 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Variable de estudio		Indicadores	Categorización	Escala de medición
Agentes Antibacterianos	Extracto acuoso del <i>Plantago major</i>	-	Extracto acuoso del <i>Plantago major</i> 100 %	Nominal
	Extracto etanólico del <i>Plantago major</i>	Diluciones	Extracto etanólico del <i>Plantago major</i> al 25 %	Nominal
			Extracto etanólico del <i>Plantago major</i> al 50 %	Nominal

		Extracto etanólico del <i>Plantago major</i> al 75 %	Nominal
		Extracto etanólico del <i>Plantago major</i> al 100 %	Nominal
	Gluconato de clorhexidina (grupo control)	Concentración al 0,12 %	Nominal
Efecto antibacteriano	Halos de inhibición según la escala de Duraffourd.	<ul style="list-style-type: none"> • Nula: < 8 mm • Sensibilidad límite: 8 a 14 mm • Sensibilidad media: 14 a 20 mm • Sumamente sensible : >20 mm 	Ordinal

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

4.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

- **EXPERIMENTAL (IN VITRO):**

El estudio es de tipo experimental porque se realizó en forma in vitro, buscando determinar la eficacia antibacteriana del extracto etanólico del *Plantago major*, en distintas concentraciones y diluciones y del extracto acuoso de este mismo sobre la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Esto se realizó con el mayor tipo de condiciones controladas, con el fin de determinar el efecto deseado.

4.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN:

- **POR LA INTERVENCIÓN DEL INVESTIGADOR:
EXPERIMENTAL**

Como explicamos previamente el estudio fue realizado en forma in vitro, con los cuidados sumamente estrictos, además llevaremos un control de los efectos buscados en los distintos extractos sobre la cepa estudiada.

- **POR EL PERIODO EN QUE SE CAPTA LA INFORMACIÓN: PROSPECTIVO**

El estudio es de tipo prospectivo debido a que fue recaudando los datos a medida que ejecutamos la investigación, los datos serán propios de esta investigación.

- **POR LA SECUENCIA TEMPORAL: TRANSVERSAL**

El estudio es de tipo transversal porque se trata de muestras independientes, en las que se realizó una única medida.

- **POR LA FINALIDAD DEL ESTUDIO: ANALÍTICO**

Se considera un estudio de tipo analítico porque tuvo múltiples variables, como lo son las distintas concentraciones y los tipos de extractos con los que ejecutaremos esta investigación, además también buscaremos la respuesta a la hipótesis planteada, al medir el efecto antibacteriano alcanzado por los distintos extractos estudiados.

4.3 ÁMBITO DE ESTUDIO

El presente trabajo fue ejecutado en la Universidad Privada de Tacna, en la Facultad de Ciencias de la Salud, Área de Microbiología, con la finalidad de evaluar las propiedades antibacterianas del extracto acuoso y etanólico del *Plantago*

major en el campo odontológico, en el tratamiento y la prevención del desarrollo de la caries dental. Llevado a cabo entre los meses de Marzo – Julio.

4.4 POBLACIÓN Y MUESTRA

La población que se estudió estuvo conformada por el grupo de cultivos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 obtenidas en placas Petri, las cuales fueron sometidas a diferentes concentraciones de extracto etanólico de *Plantago major* (25 %, 50 %, 75 % y 100 %) y de extracto acuoso del mismo, en el laboratorio de microbiología de la Universidad Privada de Tacna, en el año 2020.

Se utilizó en total 16 placas las cuales fueron destinadas de la siguiente manera: 4 placas Petri para el EAL, 8 placas Petri para el EEL, las cuales a su vez se agruparon de 2 y fueron divididas en 4 para analizar las cargas de 10 µL, 15 µL, 20 µL y 25 µL, además de las distintas concentraciones y 4 placas Petri para realizar el grupo control. Anexo a estas placas se prepararon dos placas extras para reemplazar alguna, si es que se presentara alguna contaminación.

4.4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- *Plantago major* que no presentó ataques por bacterias, hongos y herbívoros.

- Placas con siembra adecuada de *S. mutans*, que no presentaron ningún tipo de contaminación bacteriana ni contaminación de algún otro tipo de microbios.

4.5 PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

4.5.1 COORDINACIÓN

- a) Se coordinó con la Facultad de Ciencias de la Salud De la Universidad Privada de Tacna mediante una solicitud, dirigida al Decano de la facultad. En este se solicitó facilidades para ejecutar el proyecto de investigación.
- b) Una vez aprobada dicha solicitud, se coordinó con el Biólogo a cargo del laboratorio de la facultad con el fin de poder ejecutar el estudio de investigación.

4.5.2 PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Se registró las concentraciones y los halos de inhibición en milímetros que se formaron. (anexo 1)

4.5.3 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE LOS DATOS

Se utilizó la técnica de observación directa, la cual consiste en observar atentamente el fenómeno, tomar información y registrarla para el análisis.

Los datos que fueron obtenidos se registraron en una ficha de recolección de datos para realizar el respectivo análisis.

4.5.4 FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Fue de uso exclusivo del investigador, se diseñó para registrar la actividad inhibitoria, la cual midió el diámetro de los halos en mm, las concentraciones y número de veces realizadas, de las distintas concentración y extractos. (anexo1).

Se utilizó el programa Microsoft Office Excel para transferir la información recaudada en la ficha y así procesar los datos obtenidos.

Una vez realizado el procesamiento, se transfirió la información al programa SPSS Statistics 18, el cual ayudó a organizar las variables según su origen mediante a los protocolos ya establecidos con el fin de buscar si los datos presentan una distribución normal y realizar el estadístico de prueba ANOVA.

Posteriormente los resultados se presentaron mediante gráficos y tablas estadísticas para dar respuesta a los objetivos planteados en la investigación.

4.5.5 INSTRUMENTOS

4.5.5.1 EQUIPOS

- Estufa Memmert

- Autoclave Lab. Companion
- Balanza electrónica Denver Instrument
- Incubadora Blinder
- Equipo de vórtex IKA
- Centrífuga Greet Med
- Balanza analítica Sartorius Basic

4.5.5.2 MATERIAL DE VIDRIO

- Tubos de ensayos Pyrex de 20 mL
- Francos color ámbar grande, mediano y pequeño
- Capsula Petri Pyrex
- Matraces 100 mL Schott Duran
- Matraces 250 mL Schott Duran
- Matraces 50 mL Schott Duran
- Micropipeta de 10 μ L Boeco Germany
- Micropipeta de 100 μ L Boeco Germany
- Micropipeta de 1000 μ L Boeco Germany
- Vaso precipitado de 250 mL Boeco Germany
- Vaso precipitado de 400 mL Boeco Germany
- Vaso precipitado de 600 mL Boeco Germany
- Probeta 100 mL LMS Germany
- Frascos de vidrio 250 mL Boeco Germany
- Frascos de vidrio 500 mL Boeco Germany

4.5.5.3 MEDIOS DE CULTIVO, BACTERIA Y REACTIVOS

- Agar Brain Heart Infusion Diagnostic Liofilchem

- Caldo Brain Heart Infusion DiagnosticiLiofilchem
- Tioglicolato Diagnostic Liofilchem
- Alcohol Alcofarma al 70°
- Agua destilada Braun 1000 mL
- Bacteria Streptococcus mutans ATCC 215175

4.5.5.4 OTROS

- Gradilla
- Espátula Zhermack
- Encendedor Clipper
- Pinzas
- Tubos Falcon 15 mL
- Cinta indicadora para esterilizar 3M
- Papel crepado para esterilizar
- Mascarilla
- Papel filtro Whatman Ge Healthcare Life sciences N° 42
- Papel filtro Whatman Ge Healthcare Life sciences N° 3
- Papel filtro Whatman Ge Healthcare Life sciences N° 1
- Guardapolvos
- Guantes Great Glove
- Algodón Coppon
- Soporte universal
- Papel aluminio Nice
- Marcadores Faber-Castell
- Regla Faber-Castell

- Papel toalla Elite
- Hisopos estériles de madera
- Tips para Micropipeta Global Roll 1000 μL
- Tips para Micropipeta Global Roll 200 μL
- Placas Petri Samplix desechables
- compás Vernier Ubermann

CAPÍTULO V

PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS DE DATOS

5.1 RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

5.1.1 RECOLECCIÓN DEL PLANTAGO MAJOR

Se realizó la obtención *del Plantago major* en el mes de marzo del 2020, en el mercado “Mayorista Grau” de la ciudad de Tacna y el embasamiento para su transporte. El *Plantago major* fue recolectado y examinado para poder detectar cualquier tipo de contaminación, luego transportado mediante condiciones de higiene, para impedir que este se contamine. Se separaron algunos componentes que no fueron utilizados como restos de tallos, hojas y otros, que puedan alterar su composición. De esta manera se transportó el *Plantago major* desde el lugar de recolección hacia el laboratorio de la Universidad Privada de Tacna, donde fue colocado en rejillas estériles y se procedió a secar las hojas en temperatura ambiente durante 1 semana. Posteriormente se colocó en la estufa a 35°C durante 5 días, para posteriormente pulverizar las hojas y almacenarlas en recipientes estériles. (anexo 2)

5.1.2 EXTRACTO ACUOSO

El extracto acuoso es un extracto líquido el cual presenta como principal solvente el agua, estos extractos presentan una menor concentración que los extractos

hidroalcohólicos; su principal ventaja es la facilidad de preparación, pero es importante recalcar que presentan menor sedimento y el color como el aroma son menores que el observado en el extracto etanólico. Su uso principal se observa en cosméticos y productos alimenticios por sus características organolépticas (25).

5.1.2.1 Preparación del extracto acuoso

Para la obtención del extracto acuoso, se colocó 25 g de polvo del *Plantago major* y se mezcló con 250 mL de agua destilada y almacenada en un frasco de vidrio con boca ancha (BOECO). La mezcla fue llevada a la autoclave para realizar su esterilización. Posteriormente fue filtrada con papel filtro Whatman N°1. Como resultado tendremos un extracto acuoso, libre de gérmenes, el cual será envasado en frascos de vidrio color ámbar y almacenado.

5.1.3 EXTRACTO ETANÓLICO

El extracto etanólico presenta como solvente principal el alcohol, contiene un olor y color particular. Es obtenida a partir de un componente vegetal deshidratado, el cual es combinado con alcohol etílico mediante un proceso de maceración, seguido de eliminación de dicho solvente por medio de calor (26).

5.1.3.1 Preparación de los extractos etanólicos

Para obtener el extracto etanólico se utilizó 100 g de hojas secas, pulverizadas y tamizadas en un frasco de vidrio con boca ancha (BOECO). Posteriormente se agregó 368 mL alcohol de 70°. El frasco fue cubierto con papel aluminio y almacenado a temperatura ambiente. La mezcla se dejó reposar por 15 días, agitándolo 2 veces por día durante 15 min. El macerado fue filtrado por medio de papel filtro Whatman N°42 y colocado en un matraz de Erlenmeyer y luego llevado a una estufa a 60°C con el fin de eliminar el agua presente en la solución.

5.1.3.2 Preparación las diferentes concentraciones del extracto etanólico

Luego de conseguir evaporar el líquido se obtuvo un cristal el cual se denomina, extracto etanólico seco.

Este cristal fue triturado y pesado, se obtuvo 4.2 g de extracto etanólico seco el cual fue reconstituido en 30 mL de alcohol al 70 %, obteniendo un extracto base el cual consideramos la concentración 100 %. Una vez obtenida dicha concentración se procedió a dividir la mezcla en 4 frascos ámbar con cantidades de 2.5 mL, 5 mm, 7.5 mL y 10 mL.

A los 3 primeros frascos se le agregó agua destilada 7.5mL, 5mL y 2.5mL para poder fraccionar la concentración y obtener así las distintas

concentraciones al 25 %, 50 %, 75 % y 100 % con las cuales pudimos trabajar.

Estas concentraciones fueron separadas y almacenadas a 4°C.

5.1.4 CLORHEXIDINA

Pertenece al grupo químico de las biguanidas, correspondiendo a una molécula catiónica desarrollada en Inglaterra en 1954 accidentalmente, cuando se buscaba un agente antimalárico; los estudios in vitro revelaron una alta actividad antibacteriana y una posterior evaluación reportó su baja toxicidad en mamíferos, buena afinidad con la piel, membranas y mucosas. Todas estas propiedades llevaron al posterior desarrollo y aplicación de clorhexidina como un recomendado antiséptico para piel y mucosas, en heridas leves y para uso odontológico.

La clorhexidina tiene un efecto bactericida intermedio, ampliamente activa contra bacterias grampositivas (son las más sensibles), gramnegativas, anaerobias facultativas y aerobias y en menor medida, contra hongos y levaduras. Tiene escasa actividad contra *Mycobacterium tuberculosis* (bacteriostático) y no es esporicida.

Una de sus características más sobresalientes es su actividad in vitro contra virus con envoltura, tales como

herpes simple, VIH, citomegalovirus, influenza y virus respiratorio sincicial, presentando menor actividad contra virus sin manto, como rotavirus, poliovirus y adenovirus.

Respecto de su mecanismo de acción, se ha demostrado que su absorción ocurre por difusión pasiva a través de las membranas celulares, la que es muy rápida tanto en bacterias como en levaduras, consiguiéndose importante efecto ya a los 20 seg. A bajas concentraciones produce una alteración de la permeabilidad osmótica de la membrana y una inhibición de enzimas del espacio periplásmico. A concentraciones elevadas origina la precipitación de proteínas y ácidos nucleicos (27).

5.2 OBTENCIÓN DE LA CEPA DE STREPTOCOCCUS MUTANS

La cepa liofilizada de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 fue obtenida de los laboratorios GenLab del Perú SAC. de Microbiologics TM.

5.3 EVALUACIÓN DE LOS AGENTES ANTIBACTERIANOS

El efecto antibacteriano del EAL y EEL se evaluó mediante pruebas de sensibilidad bacteriana in vitro, utilizando el método de difusión en disco (Kirby Bauer).

5.3.1 PREPARACIÓN DE LA CEPA

Se obtuvo la cepa liofilizada de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175 la cual fue cultivada en placas Petri en un medio de Agar y Caldo, cerebro–corazón y tioglicolato a 37°C. Para la activación de la cepa se procedió a romper las bombillas en donde se encuentra almacenada la cepa y fue colocada en Agar cerebro–corazón y serán llevadas a incubación a 37°C en microaerofilia durante 48 horas en una jarra de anaerobiosis. Posteriormente se transfirió cinco colonias con un asa bacteriológica y fueron colocadas en un tubo conteniendo 8 mL de BHI e incubadas durante 24 horas en microaerofilia mediante una jarra de anaerobiosis. A partir de esta suspensión se hicieron siembras con la técnica de hisopado, que consiste en esparcir 10 veces el caldo preparado sobre el agar cerebro-corazón a doble capa de 4mm de grosor y Las placas fueron colocadas en una jarra de anaerobiosis con un sobre del sistema Gaspak™ EZ Campy Container System para generar un ambiente de microaerofilia y fueron incubadas por 48 horas a 37 °C.

5.3.2 PREPARACIÓN DE LOS DISCOS

Los discos se obtuvieron de papel Whatman N°3 con un diámetro de 6mm, los cuales fueron esterilizados y almacenados. Estos discos fueron embebidos con los distintos tipos y porcentajes de extractos a estudiar, al igual que con el grupo control positivo y negativo.

5.3.3 DISTRIBUCIÓN DE DISCOS EN LAS PLACA INOCULADAS

Se utilizaron 16 placas Petri para las pruebas realizadas. Se realizó el método de difusión con discos (Kirby-Bauer), colocando 8 discos embebidos por cada una de las concentraciones a estudiadas. Se traspasó la bacteria del caldo al Agar por medio de la técnica de hisopado, posteriormente se dividió la placa Petri en 4 sectores, en los cuales se colocó un disco por sector conteniendo 10 μL , 15 μL , 20 μL y 25 μL con las distintas concentraciones. Estos tendrán una distancia de 2 cm entre cada disco. Posteriormente fueron colocadas en una jarra de anaerobiosis con un sobre del sistema GaspakTM EZ Campy Container System para generar un ambiente de microaerofilia, para poder examinar los halos formados por la inhibición de los extractos y sus concentraciones.

5.3.4 LECTURA

Estos halos fueron medidos con la ayuda de compás calibrado para poder determinar el diámetro exacto que presentaban.

El diámetro de inhibición en esta zona es directamente proporcional a la actividad antibacteriana de los EEL, EAL, y el gluconato de clorhexidina sobre los microorganismos estudiados.

Para realizar la interpretación de los resultados obtenidos se utilizó como base las pautas marcadas por: DURAFFOURD y LAPRAZ las cuales consideran la

eficacia antibacteriana sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 según los halos de crecimientos:

- Nula: < 8 mm
- Sensible límite: 8 a 14 mm
- Sensibilidad media: 14 a 20 mm
- Sumamente sensible: >20 mm

5.4 CROMATOGRAFÍA

La cromatografía es un método muy utilizado en todas las ramas de la ciencia que permite la separación, identificación y determinación de los componentes químicos en mezclas complejas. Ningún otro método de separación es tan potente y de aplicación tan general. Las cromatografías son procesos que abarcan varias técnicas separativas, basadas en propiedades físicas de ciertos materiales, que, en interacción con sustancias o mezclas de sustancias, la cual guarda relación con las propiedades químicas de éstas, permite descomponer una mezcla y analizar sus constituyentes (28).

Se realizó el análisis físico-químico del EEL y EAL con el laboratorio de la Universidad Católica de Santa María de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas “Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad, con sede en la ciudad de Arequipa, Perú. (anexo 3).

CAPÍTULO VI

RESULTADOS

Se entregó la muestra de EAL obteniéndose el informe N° ANA07A20.004466A. El análisis por cromatografía en capa fina realizado al EAL puro identificó y reportó la presencia de terpenos (Anexo 3).

Se entregó la muestra de EEL obteniéndose el informe N° ANA07A20.004466B. El análisis por cromatografía en capa fina realizado al EEL puro identificó y reportó la presencia de terpenos, di terpenos, saponinas, terpenoidales y aceites esenciales (Anexo 3).

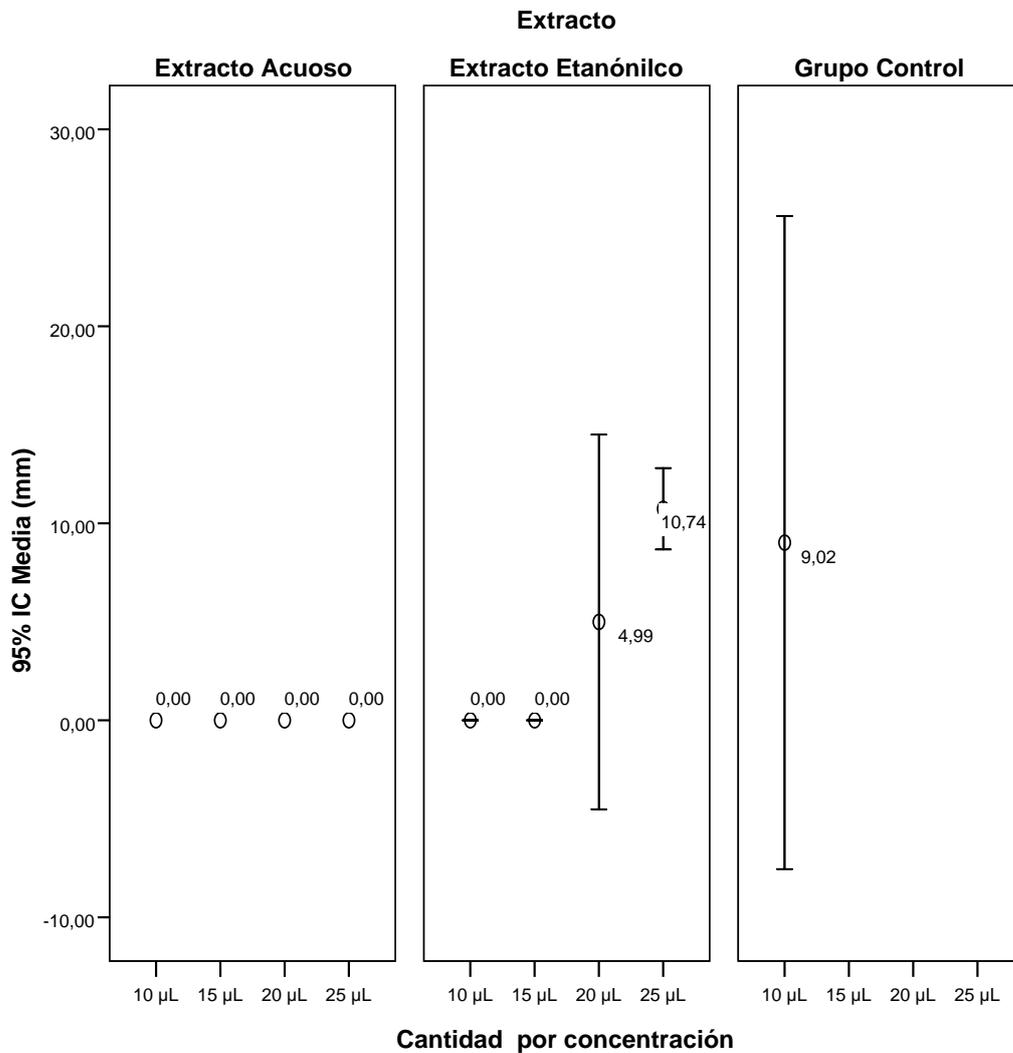
El revelado de la cromatoplaca donde se observan las manchas correspondientes a los metabolitos hallados se muestra.

TABLA Nro. 01
ESTADISTICOS DESCRIPTIVOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
LLANTÉN A DIFERENTES CANTIDADES Y CONCENTRACIONES Y
GRUPO CONTROL

Extracto	Cantidad	Concentración		Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
EXTRACTO ETANÓLICO	10 µL	25 %	Media de Placas (mm)	.00	.00	.0000	.0000
		50 %	Media de Placas (mm)	.00	.00	.0000	.0000
		75 %	Media de Placas (mm)	.00	.00	.0000	.0000
		100 %	Media de Placas (mm)	.00	.00	.0000	.0000
	15 µL	25 %	Media de Placas (mm)	.00	.00	.0000	.0000
		50 %	Media de Placas (mm)	.00	.00	.0000	.0000
		75 %	Media de Placas (mm)	.00	.00	.0000	.0000
		100 %	Media de Placas (mm)	.00	.00	.0000	.0000
	20 µL	25 %	Media de Placas (mm)	.00	.00	.0000	.0000
		50 %	Media de Placas (mm)	.00	.00	.0000	.0000
		75 %	Media de Placas (mm)	8.05	8.05	8.0500	.0000
		100 %	Media de Placas (mm)	11.91	11.91	11.9100	.0000
	25 µL	25 %	Media de Placas (mm)	9.37	9.37	9.3700	.0000
		50 %	Media de Placas (mm)	10.41	10.41	10.4100	.0000
		75 %	Media de Placas (mm)	10.68	10.68	10.6800	.0000
		100 %	Media de Placas (mm)	12.49	12.49	12.4900	.0000
GRUPO CONTROL	10 µL	Negativo (-)	Media de Placas (mm)	.00	.00	.0000	.00000
		Positivo (+)	Media de Placas (mm)	17.92	18.16	18.0400	.16971

Fuente: Extracto etanólico de llantén

GRÁFICO Nro. 01
INTERVALO DE CONFIANZA: EXTRACTO ETANÓLICO DE LLANTÉN
Y GRUPO CONTROL



INTERPRETACIÓN:

En la presente tabla y gráfico se pueden apreciar la distribución por estadísticos descriptivos para el extracto etanólico de *Plantago major* en el cual no muestra actividad antibacteriana alguna en las cargas de 10 µL y 15 µL, mientras que en la carga a 20 µL en la concentración de 75 %

presenta una actividad antibacteriana de 8,05 mm y al 100 % presenta una media de 11,91 mm. Por otro lado, para las cargas de 25 μ L presento actividad antibacteriana, en la concentración al 25 % registro una inhibición de 9,37 mm, al 50 % una inhibición de 10,41 mm, al 75 % una inhibición de 10,68 mm y al 100 % una inhibición de 12,49 mm. Vale decir que, según los halos de inhibición logrados, clasificándolos según la escala de Duraffourd y Lapraz, obtuvimos un efecto inhibitorio de sensibilidad limite sobre el *Streptococcus mutans*.

En cuanto al grupo control, para el grupo control positivo (clorhexidina) y el negativo (agua destilada) donde no se observa actividad alguna en el grupo control negativo, mientras que en el grupo control positivo encontramos una media de $18,040 \pm 0,16971$ mm de actividad antibacteriana, presentando un valor mínimo de 17,92 mm. y un valor máximo de 18,16 mm. Vale decir que, los halos de inhibición generados por la clorhexidina, según la escala de Duraffourd, tiene efecto o actividad inhibitoria Sensible Media sobre el *Streptococcus mutans*.

CONTRASTE DE HIPÓTESIS

En primer lugar, comprobaremos si los halos de crecimiento (mm) cumple el criterio de normalidad basándonos en la prueba de Kolmogorov-Smirnov por medición y grupo de estudio.

PRUEBA DE KOLMOGOROV-SMIRNOV PARA UNA MUESTRA

		Extracto	Cantidad por concentración	Concentración del extracto
N		24	24	24
Parámetros normales(a,b)	Media	2.00	16.25	58.42
	Desviación típica	.590	5.944	37.937
Diferencias más extremas	Absoluta	.333	.228	.197
	Positiva	.333	.228	.144
	Negativa	-.333	-.153	-.197
Z de Kolmogorov-Smirnov		1.633	1.119	.964
Sig. asintót. (bilateral)		.010	.163	.310

a La distribución de contraste es la Normal.

b Se han calculado a partir de los datos.

H₀: Los datos se distribuyen de manera normal

H₁: Los datos se distribuyen de manera No normal

Los resultados muestran que según Kolmogorov-Smirnov que su valor p o Sig. Son Mayores a 0,05, por lo tanto, **No se Rechaza H₀**

Por tanto, se concluye que debe usarse una prueba Paramétrica

ANOVA

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Media

Extracto	Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Extracto Etanólico	Modelo corregido	425.524(a)	15	28.368	.	.
	Intersección	247.354	1	247.354	.	.
	CONCENTRACIÓN	38.230	3	12.743	.	.
	CANTIDAD	313.422	3	104.474	.	.
	CONCENTRACIÓN * CANTIDAD	73.872	9	8.208	.	.
	Error	.000	0	.	.	.
	Total	672.878	16			
	Total corregida	425.524	15			
Grupo Control	Modelo corregido	325.442(b)	1	325.442	22600.111	.000
	Intersección	325.442	1	325.442	22600.111	.000
	CONCENTRACIÓN	325.442	1	325.442	22600.111	.000
	CANTIDAD	.000	0	.	.	.
	CONCENTRACIÓN * CANTIDAD	.000	0	.	.	.
	Error	.029	2	.014		
	Total	650.912	4			
	Total corregida	325.470	3			

a R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = .)

b R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = 1.000)

Se realiza la prueba de ANOVA para demostrar diferencia entre las variables. Con un valor Sig. O el valor p es menor a 0,05, solo para el grupo control, por lo tanto, existe diferencia en la media de las mediciones del Halo en milímetros de crecimiento entre los grupos control, pero no con el extracto acuoso ni con el extracto etanólico.

Ho: No Existe diferencia entre el Extracto acuoso, etanólico y la Clorhexidina.

H1: Existe diferencia entre el Extracto acuoso, etanólico y la Clorhexidina.

$\alpha = 0,05$

Como $P < \alpha$ se rechaza H_0

Decisión: Existe efecto de la media de la Clorhexidina, más no del extracto acuoso ni del extracto etanólico.

DIÁMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN (SEGÚN LA ESCALA DE DURAFFOURD)

Extracto	Cantidad	Concentración		Media	Desv. típ.	Diámetro de halo de inhibición	
EXTRACTO ACUOSO	10 µL	100 %	Media de Placas (mm)				
	15 µL			.0000	.0000	Nula(-)< 8 mm	
	20 µL						
	25 µL						
EXTRACTO ETANÓLICO	10 µL	25 %	Media de Placas (mm)	.0000	.0000	Nula(-)< 8 mm	
		50 %	Media de Placas (mm)	.0000	.0000	Nula(-)< 8 mm	
		75 %	Media de Placas (mm)	.0000	.0000	Nula(-)< 8 mm	
		100 %	Media de Placas (mm)	.0000	.0000	Nula(-)< 8 mm	
	15 µL	25 %	Media de Placas (mm)	.0000	.0000	Nula(-)< 8 mm	
		50 %	Media de Placas (mm)	.0000	.0000	Nula(-)< 8 mm	
		75 %	Media de Placas (mm)	.0000	.0000	Nula(-)< 8 mm	
		100 %	Media de Placas (mm)	.0000	.0000	Nula(-)< 8 mm	
	20 µL	25 %	Media de Placas (mm)	.0000	.0000	Nula(-)< 8 mm	
		50 %	Media de Placas (mm)	.0000	.0000	Nula(-)< 8 mm	
		75 %	Media de Placas (mm)	8.0500	.0000	Sensibilidad límite (+)= 8-14 mm	
		100 %	Media de Placas (mm)	11.9100	.0000	Sensibilidad límite (+)= 8-14 mm	
	25 µL	25 %	Media de Placas (mm)	9.3700	.0000	Sensibilidad límite (+)= 8-14 mm	
		50 %	Media de Placas (mm)	10.4100	.0000	Sensibilidad límite (+)= 8-14 mm	
		75 %	Media de Placas (mm)	10.6800	.0000	Sensibilidad límite (+)= 8-14 mm	
		100 %	Media de Placas (mm)	12.4900	.0000	Sensibilidad límite (+)= 8-14 mm	
	GRUPO CONTROL	10 µL	Negativo (-)	Media de Placas (mm)	0.0000	.00000	Nula(-)< 8 mm
			Positivo (+)	Media de Placas (mm)	18.0400	.16971	Sensibilidad Media(++)= 14.1 - 20 mm

Para el Efecto antibacteriano observando los Halos de Inhibición de crecimiento: El Extracto acuoso al 25 %, 50 %, 75 % y 100 %, representa diámetro nulo. Por otro lado el extracto etanólico 20 µL muestra diámetro

de halo que al 25 % y 50 % de concentración es nulo, al 75 % y al 100 % con un diámetro Sensibilidad límite (+)= 8-14 mm. En el extracto etanólico 25 μ L muestra diámetro de halo que al 25 %, 50 %, 75 % y al 100 % de concentración es Sensibilidad límite (+)= 8-14 mm. Finalmente para el grupo control 10 μ L muestra diámetro de halo (mm) con Sensibilidad Media(++)= 14.1 - 20 mm.

CAPÍTULO VII

DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 DISCUSIÓN

El análisis por cromatografía en capa fina realizado al EAL puro identificó y reportó la presencia de terpenos. Mientras que el análisis por cromatografía en capa fina realizado al EEL identificó y reportó la presencia de terpenos, di terpenos, saponinas terpenoidales y aceites esenciales. Dicho análisis químico coincide con el realizado en las investigaciones de Alvarado VA (14) y por Blanco (1) mas no en los resultados obtenidos por dicho método. Esto puede deberse a diversos factores tales como el lugar en donde se recoleta la muestra, condiciones climáticas, regiones, tipo de nutrientes presentes en la tierra, procesamiento de los extractos, etc. Alvarado detectó la presencia de saponinas, flavonoides, fenoles, alcaloides, lactosa, quinonas y curaminas. Mientras que Blanco destaca la presencia de aucubina y catalpol como componentes principales del llantén proveniente de Costa Rica. Ambos estudios utilizaron al *Plantago major* en distintos aspectos de ciencias de la salud, pero ninguno comparo a dicha planta frente al *S. mutans*.

Evaluando los distintos componentes químicos presentes en el EAL y el EEL, se llega a la conclusión que el responsable de la capacidad antibacteriana presente en el EEL se debe a las saponinas terpenoidales, las cuales tiene un efecto irritante sobre las bacterias y logran así su ligera capacidad antibacteriana sobre el *Streptococcus mutans*. Cabe recalcar que los compuestos presentes en el llantén pueden provocar diferentes trastornos celulares tales

como la alteración de las propiedades fisicoquímicas de la membrana plasmática, inhibición de la síntesis de los ácidos nucleicos y aumento de la toxicidad debido a la formación de peróxido de hidrógeno. Los terpenos, por ejemplo, pueden reaccionar con las proteínas ricas en prolina y formar complejos irreversibles que provocan la inhibición de la actividad de las enzimas bacterianas (29).

El presente trabajo investigó la presencia de actividad antibacteriana del *Plantago major*, en el cual se observó una nula y limitada presencia del efecto antibacteriano en los extractos acuoso y etanólico del *Plantago major*. Según la escala de Duraffourd el extracto etanólico de llantén presenta una capacidad inhibitoria de sensibilidad limite frente al *Streptococcus mutans*. Siendo esta escala la presente en todos los antecedentes observados referente a los trabajos de investigación que preceden a este. De la misma manera se hizo la comparación con la clorhexidina al 0,12 % obteniendo esta mejores resultados que los extractos obtenidos, ubicándose, según Duraffourd, en el grupo con actividad inhibitoria sensible media sobre el *Streptococcus mutans*.

El estudio coincide en que existe efecto de la media de la Clorhexidina, más no del extracto acuoso ni del extracto etanólico. Según **Rivera BB.** (13) observó que el extracto de *Plantago major* muestra un resultado de inhibición de 7,48 mm aproximadamente al 25 %, de 7,97 mm aproximadamente al 50 % y de 9,57 mm al 100 %. Concluyendo que el estudio fue que el *Plantago major* si posee capacidad antibacteriana en una concentración de 100 %, ya que en las concentraciones de 25 % y 50 % no se apreciaba una gran diferencia.

Similar al estudio presentado por **Alvarado VA, Moroni H.** (14) observó que el efecto antibacteriano del *Plantago major* sobre el *Streptococcus mutans* fue de 7,6 mm en la concentración de 25 µg/mL y de 8,8 mm en la concentración de 50 µg/mL. Como grupo control se trabajó con la clorhexidina al 0,12 % y esta lograba halos de 22 mm. Como conclusión de obtuvo que el *Plantago major* tiene capacidad antimicrobiana sobre el *Streptococcus mutans*, pero no un efecto mayor que la clorhexidina al 0.12 %. Lo cual coincide con el estudio realizado, debido a que el presente obtuvo una mayor capacidad antibacteriana de la clorhexidina sobre el *Streptococcus mutans*, siendo considerada como actividad inhibitoria sensible media, mientras que el EEL obtuvo una capacidad inhibitoria de sensibilidad límite sobre el *Streptococcus mutans*.

Estudio que coincide con el presentado por **Eduardo AP y col.** (15) observó que del extracto de *Plantago major* en una concentración de 900 µg/ml indicaban un halo de 18 mm y en la concentración de 1000 µg/ml un halo de 22 mm. Teniendo como conclusión que el *Plantago major* tiene un efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans*. Se observa una mayor carga de trabajo, como se aprecia en el estudio realizado, a medida que aumentábamos la carga pasando de 10 µL a 15 µL luego a 20 µL y finalmente a 25 µL el efecto antibacteriano del EEL iba aumentando, los diámetros iban siendo mayores y se podían observar una mayor capacidad antibacteriana. Siendo esta directamente proporcional a la cantidad de material utilizado, no obstante, tenemos que recalcar que un efecto similar obtendremos al aumentar las cantidades de clorhexidina. Concluyendo que aun así el efecto de la clorhexidina sigue siendo mayor que el del EEL.

Estudio que difiere al presentado por **Pachamango LV.** (17) obtuvo que el extracto etanólico del *Plantago major* al 75 % tuvo halos de

10 mm y la clorhexidina al 0,12 % presento halos de 13,6 mm. Se indica también que el extracto etanólico al 50 % y 75 % tuvieron efectos inhibitorios parecidos. Como conclusión se indica que el extracto etanólico de *Plantago major* al 75 % tiene efecto antibacteriano similar al de la clorhexidina al 0,12 % sobre el *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586)

Estudio que difiere del presentado por **Borja VV.** (16) los resultados demostraron una capacidad de inhibición de los tres extractos frente a la *Porphyromona gingivalis*, con halos de 10,2 mm para el extracto de matricaria chamomilla, de 12,47 mm para el extracto de *Plantago major* y de 16,57 mm para el extracto de dichas plantas combinadas, demostrando así su capacidad inhibitoria. Como conclusión se indica la capacidad inhibitoria de ambas plantas sobre la *Porphyromona gingivalis* y su efecto potenciado al usarlas juntas.

7.2 CONCLUSIONES

- 1) No se observa un efecto antibacteriano considerable en el extracto acuoso y etanólico de *Plantago major* frente al *Streptococcus mutans*.
- 2) No existe efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Plantago major*.
- 3) Se observa una sensibilidad límite antibacteriana del extracto etanólico de *Plantago major* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.
- 4) Se demuestra que la capacidad antibacteriana del extracto acuoso y etanólico de plantago major es muy escasa, siendo

esta menor que la lograda por la clorhexidina al 0,12 % que presento una sensibilidad media sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

7.3 RECOMENDACIONES

- 1) Se recomienda realizar la obtención de extractos hidroetanólicos a base de *Plantago major*, con procedimientos distintos a los realizados en este estudio. El uso de un rotavapor ayudaría a obtener mejores concentraciones con mayor captación de los componentes propios de esta planta.
- 2) Se recomienda continuar con investigaciones a base de *Plantago major*, exponiendo a las diversas bacterias que generan las distintas enfermedades propias de la cavidad oral.
- 3) Se recomienda seguir realizando investigaciones sobre las propiedades farmacológicas que presentan las plantas provenientes de la región de Tacna, las cuales son utilizadas en la medicina alternativa, con el fin de buscar componentes útiles para aplicarlos en el campo odontológico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Blanco B, Saborío A, Garro G. Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de *Plantago major* (llantén mayor). *Tec Ac.* 2008; 21(2): 25. Disponible en : https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/107/106
2. Conabio.gob.mx [Internet]. Mexico: Vibrans; 2009 [actualizado 01 Feb 2012; citado 3 Jun 2019]. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/plantaginaceae/plantago-major/fichas/ficha.htm>
3. Botanical-online.com [internet] . Perú: Martínez V; 1999 [actualizado 11 Nov 2019; citado 3 Jun 2019]. Disponible en: <https://www.botanical-online.com/plantas-medicinales/llanten-propiedade>
4. Wu M, Xu L, Cai Z, Huang S, Li Y, Lei L. Disinfection of Cariogenic Pathogens in Planktonic Lifestyle, Biofilm, and Carious Dentine with Antimicrobial Photodynamic Therapy. *Wiley Online Library.* 2019;35(3):1-8. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/php.13161>
5. Gamboa F, Plazas L, García D, Aristizabal F, Sarralde A, Lamby C, et al. Presence and count of *S. mutans* in children with dental caries: before, during and after a process of oral health education. *Acta Odontol Latinoam.* 2018;31(3):156-63. Disponible en: www.scielo.org.ar/pdf/aol/v31n3/v31n3a06.pdf
6. Pumarola A, Rodríguez TA, García RJ, Piédrola AG. *Microbiología y Parasitología Médica.* 2da ed. Madrid: Salvat editores s.a; 2001
7. Liébana UJ. *Microbiología Oral.* 2da ed. Barcelona : Mcgraw - Hill international; 2002. Disponible en : https://www.academia.edu/15907074/MICROBIOLOGÍA_ORAL_2a_Edición_J_Liébana_Ureña
8. Ito Y, Ito T, Yamashiro K, Mineshiba F, Hirai K, Omori K, et al. Antimicrobial and antibiofilm effects of abietic acid on cariogenic *Streptococcus mutans*. *Odontology.* 2019; 9(10): 1-9. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10266-019-00456-0>
9. Simón SA, Mira A. Solving the etiology of dental caries. *Trends in Microbiology.* 2014; 23(2), 76–82. Disponible en: https://www.academia.edu/25947855/Solving_the_etiology_of_dental_caries
10. Kidd E, Fejerskov O. *Essentials of Dental Caries.* 1ed. Estados Unidos: Oxford; 2016

11. Red de protección social , Gobierno de Chile [Internet]. Chile: Medicamentos herbarios tradicionas ; 2013 [citado 21 de mayo de 2019]. Medicamentos Herbarios Tradicionales; [2 paginas]. Disponible en:
<https://www.minsal.cl/portal/url/item/8c121ee2c2fca527e04001011e015b83.pdf>
12. Bascones A, Morante S. Antisépticos orales: Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*. 2006; 18(1):21-9. Disponible en:
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1699-65852006000100004&lng=es&nrm=iso&tlng=es
13. Rivera B. Efecto de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos hidroalcohólicos a base de llanten (*Plantago mayor*) y te verde (*camelliasinensis*) , a la concentración del 25% , 50% y 100% sobre el streptococos Mutans [dissertation]. Arequipa: Universidad Católica de Santa Maria ; 2015. Disponible en:
<http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/3352/64.2565.O.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
14. Alvarado VV, Moromi NH. Plantas medicinales: Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major L*, *Erythroxyllum novogranatense*, *Plowman var truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. *Odontol Sanmarquina*. 2014; 13(2):21-25. Disponible en:
<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/2853>
15. Eduardo P, Juárez D, Morante N, Tejero P. Efecto antibacteriano *in vitro* de los extractos hidroetanólicos de *Prosopis pallida* (algarrobo), *Ruta graveolens* (ruda) , *Plantago major* (llantén) sobre el streptococcus mutans ATCC35668 [dissertation]. Piura: Universidad Cesar Vallejo ; 2018. Disponible en:
http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/26353/Eduardo_APE-Ju%C3%A1rez_MDA-Morante_VNA-Tejero_PPY.pdf?sequence=1&isAllowed=y
16. Borja V. Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*Matricaria Chamomilla*), extracto de llantén (*Plantago major L.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepa de *Porphyromona gingivalis* [dissertation]. Quito: Universidad Central de Ecuador; 2017. Disponible en:
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/12747/1/T-UCE-0015-758.pdf>

17. Pachamango LV. Efecto antibacteriano in vitro del extrato de *plantago major* (Llantén) y del PerioAid 0,12% sobre *fusobacterium nucleatum* ATCC25586 [dissertation]. Trujillo: Universidad Nacional De Trujillo; 2016. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/7527/PROTEJIDO%20%20TESIS-VANESSA%20PACHAMANGO.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
18. Crisanto AA, Reaño RC. Evaluacion de la actividad antibacteriana In Vitro del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* (Llantén) frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, por el método de difusión en disco y marodilución [dissertation]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2016. Disponible en: http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3877/Crisanto_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y
19. Villamizar V, Alvares J, Suarez H. Terpenos con actividad biológica anti-VIH. *Rev Duazary*.2010; 7: 257-273. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/5121/512156323008.pdf>
20. Carvajal L, Hata Y, Sierra N, Rueda D. Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (*strychnos schultesiana* krukoff). *Rev Forestal*. 2009; 12: 161-170. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/cofo/v12n1/v12n1a11.pdf>
21. *Botanica-online.com* [internet]. Perú: Martínez V; 1999 [actualizado 11 Nov 2019; citado 3 de Jun de 2019]. Disponible en: <https://www.botanical-online.com/plantas-medicinales/llanten-contraindicaciones>
22. Negroni M. *Microbiología y Estomatológica. : Fundamentos y guía práctica* . 2da ed. Buenos Aires : panamericana; 2009.
23. Herrera ML. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. *Rev. méd. Hosp. Nac. Niños*. 1999; 34:33-41. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010
24. Picazo JJ. *Procedimientos en Microbiología Clínica* [Internet]. 1frt ed. España: Sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica . 2000 [11 Jul 2019; citado 11 Jul 2019]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
25. Rodríguez D, Sanabria ME, Rodríguez JL. Comparación del Efecto de los Extractos acuoso y etanólico de *Phyllanthus niruri* ante *Phytophthora infectans*. 2006;83(1): 1-5. Disponible en:

<https://www.agroecologia.net/recursos/publicaciones/publicaciones-online/2006/CD%20Congreso%20Zaragoza/Ponencias/83%20Dorian%20Rodriguez%20Com-%20Comparaci%C3%B3n.pdf>

26. Camacho ACA, Díaz MCJ, Larreta SG. Polifenoles totales y actividad antioxidante del aceite esencial y extracto acuoso, etanólico del *Cuminum cyminum*. (Tesis). Ecuador: Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guayaquil. 2019. Disponible en: http://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/05/996387/efecto-in-vitro-antimicrobiano-de-comino-cuminum-cyminum-sobre-_rh6lQy3.pdf
27. Diomedi A, Chacón E, Hervé B, Jemenao M, Medel M, Quintanilla M, Cifuentes M. Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional. Recomendaciones del Comité Consultivo de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud, Sociedad Chilena de Infectología. *Sochinf.* 2017; 34(2): 156-174. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v34n2/art10.pdf>
28. Sgariglia, Araceli M, Soberón JR, Sampietro DA, Vattuone MA. Cromatografía: Conceptos y aplicaciones. *Rev. Arakuku.* 2010; 2(1): 1-6. Disponible en: https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/75465/CONICET_Digital_Nro.3655a360-b03b-44c8-8519-bc747d073f7c_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y
29. Avello LC, Bittner BM, Becerra AJ. Efectos antibacterianos de extractos de especies del género *Ugni* que crecen en Chile. *Rev Cubana Plant.* 2013; 18(2): 1-5. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000200008

ANEXO 1: INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

TABLA DE RESULTADOS

EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE <i>PLANTAGO MAJOR</i> (LLANTÉN)																								
EXTRACTO ETANÓLICO														EXTRACTO ACUOSO				GRUPO CONTROL						
Cantidad por concentración	10UG				15UG				20UG				25UG				10UG	15UG	20UG	25UG	10UG			
Concentración del extracto	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	100%				+	-		
Placa #1																								
Placa #2																								

EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE *PLANTAGO MAJOR* (LLANTÉN)

EXTRACTO ETANÓLICO																EXTRACTO ACUOSO				GRUPO CONTROL				
Cantidad por concentración	10UG				15UG				20UG				25UG				10UG	15UG	20UG	25UG	10UG			
Concentración del extracto	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	100%				+		-	
Placa #1	0 mm	8,87 mm	11,91 mm	12,20 mm	13,12 mm	13,22 mm	15,11 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	17,92 mm	18,16 mm	0 mm	0 mm									
Placa #2	0 mm	8,05 mm	12,48 mm	9,37 mm	10,41 mm	10,68 mm	12,49 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	18,15 mm	18,33 mm	0 mm	0 mm									

ANEXO 2: FOTOGRAFÍAS DE LOS PROCEDIMIENTOS REALIZADOS

Activación de la cepa de *Streptococcus Mutans*



Figura N° 01 - 02: Pesado del BHI y BHA.



Figura N° 03 - 04: BHA y BHI diluidos.



Figura N° 05: Preparación del BHA en capsulas Petri.

Figura N° 06: Incubación de placas Petri.



Figura N° 07 – 08: Ceba de *Streptococcus mutans* y materiales a utilizar para su activación.



Figura N° 09: Activación de la cepa de *Streptococcus mutans*.



Figura N° 10: Eliminación de oxígeno para activación de la cepa de *Streptococcus mutans*.

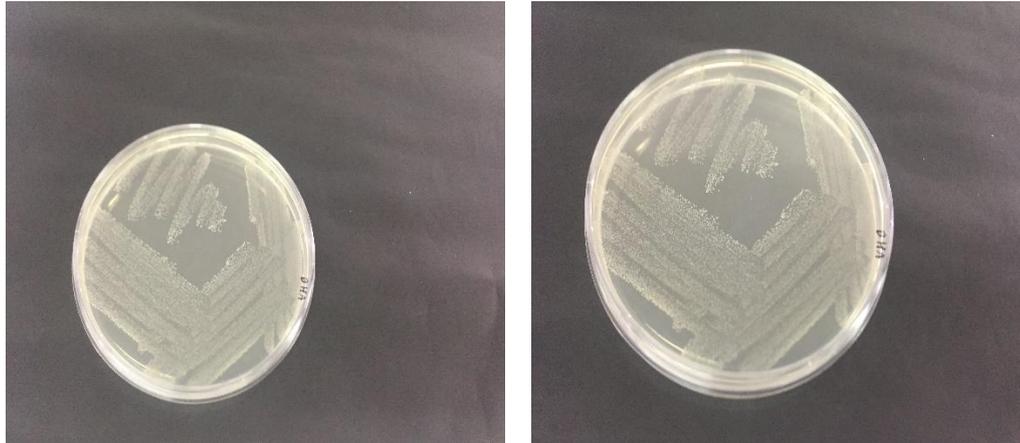


Figura N° 11 – 12: Colonias de *Streptococcus mutans*.



Figura N° 13 – 14: Preservación de la cepa *Streptococcus mutans*.

Preparación de los extractos acuoso y etanólico de *plantago major*

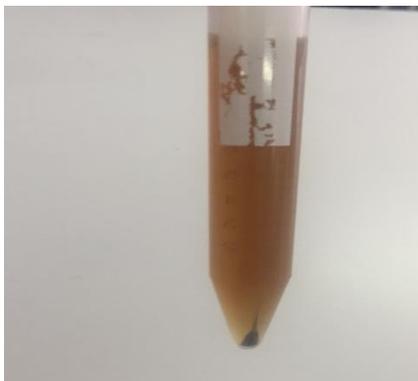


Figura N° 15: Extracto acuoso filtrado y centrifugado.

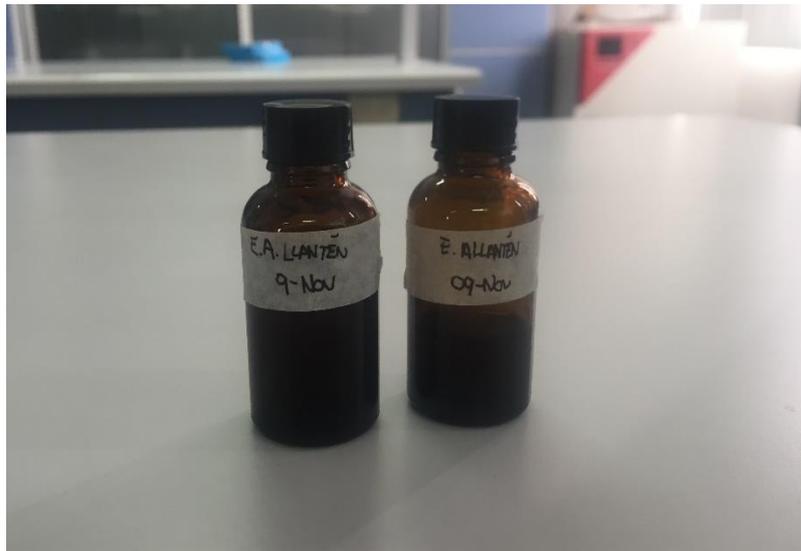


Figura N° 16: Extracto acuoso almacenado en frascos ámbar.



Figura N° 17: Extracto etanólico luego de ser haber sido macerado y filtrado.



Figura N° 17 - 18: Extracto etanólico seco, luego de permanecer en la estufa a 60°C.



Figura N° 19: Extracto etanólico seco triturado.

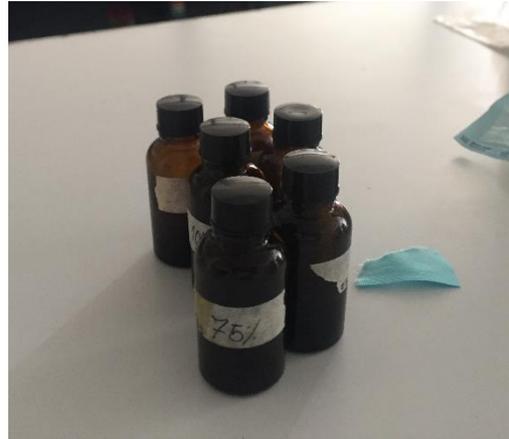


Figura N° 20 – 21: Disoluciones del extracto alcohólico y almacenamiento.

Hisopado sobre las capsulas Petri



Figura N° 22: Materiales necesarios para el hisopado.



Figura N° 23: Control de calidad de las capsulas Petri.

Figura N° 24: Hisopado sobre el BHA.



Figura N° 25 – 26: Colocación de los discos embebidos con los distintos extractos a estudiar.

RESULTADOS Y MEDICIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO Y ETANOLICO DEL *PLANTAGO MAJOR*

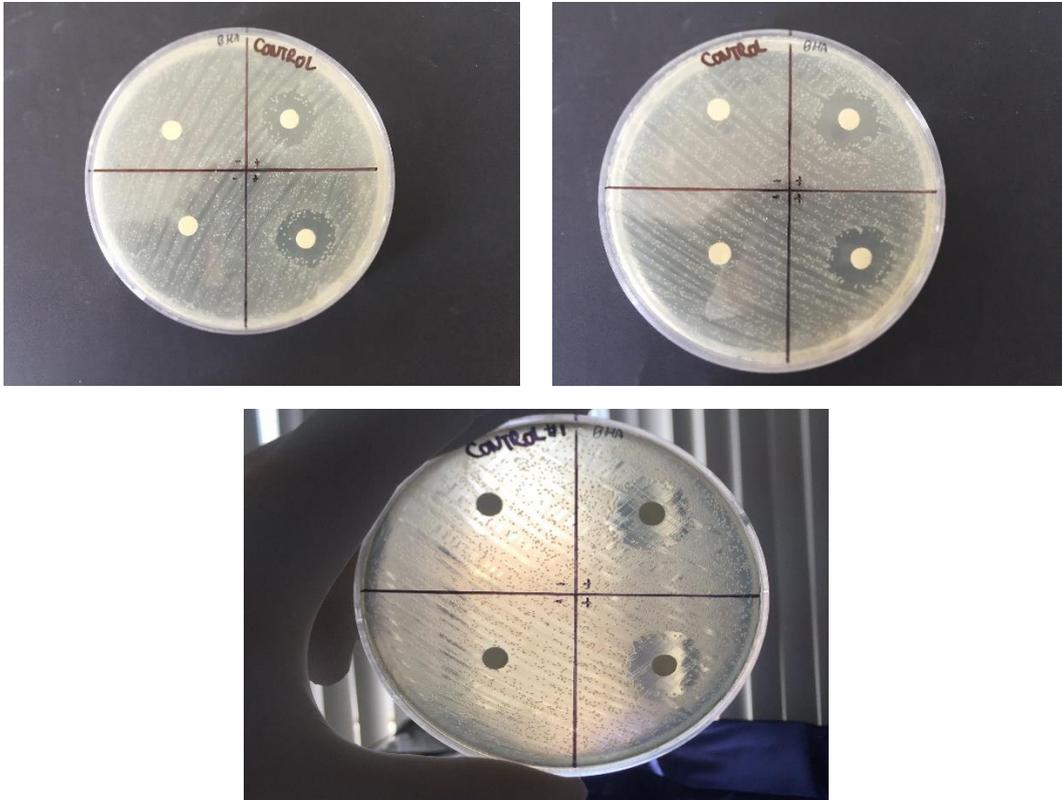


Figura N° 27 – 28 - 29: Halos formados en el Grupo control positivo que fue la clorhexidina 0,12 %.

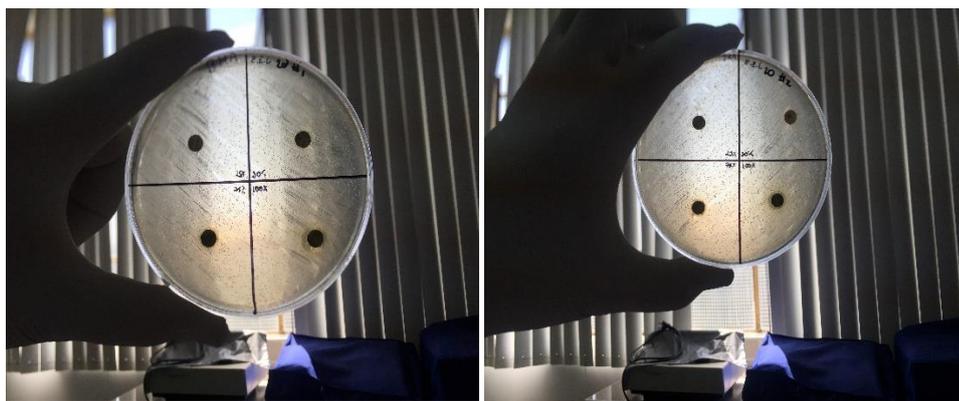


Figura N° 30 – 31: Halos formados en cargas de 20 μ L en concentraciones del 75 % y 100 % del EEL.

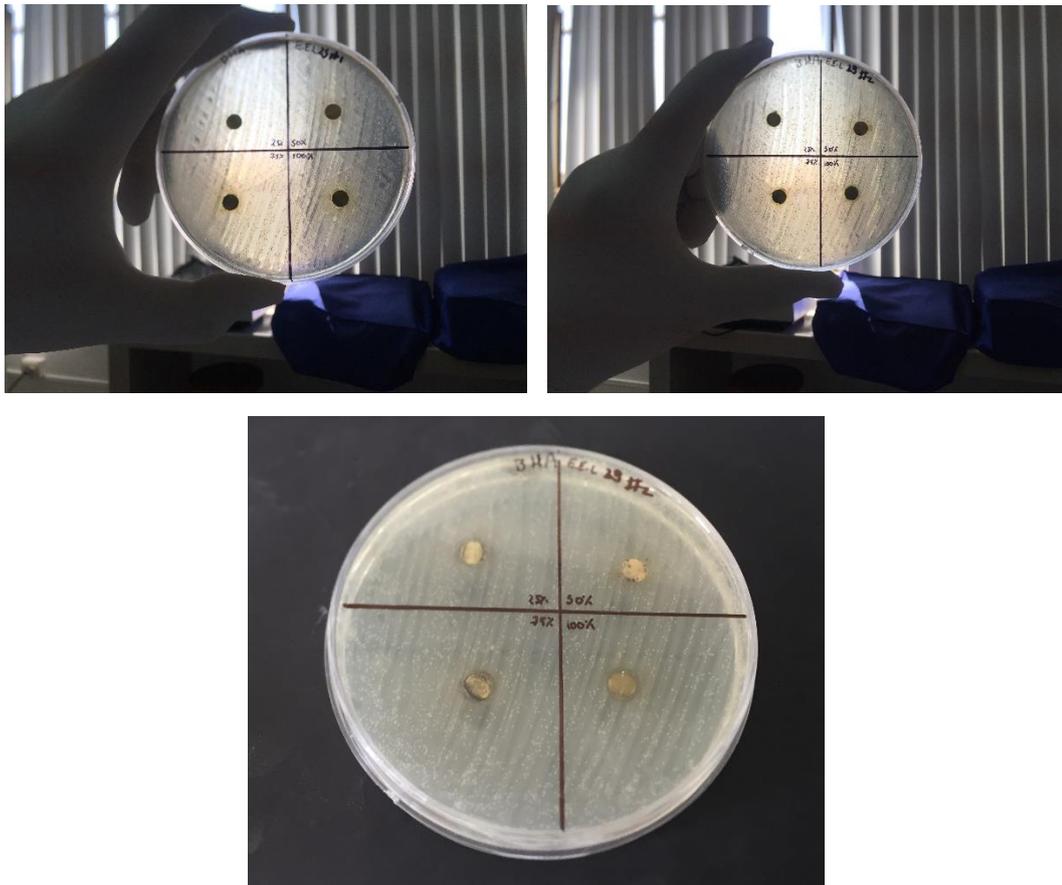


Figura N° 32 – 33 - 34: Halos formados por cargas de 25 μ L en concentraciones del 75 % y 100 % del EEL.

ANEXO 3: RESULTADOS DEL LABORATORIO



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166
 ✉ laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Apto. 1350
 AREQUIPA - PERÚ



INFORME DE ENSAYO N° ANA07A20.004466B

INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE

Nombre del cliente : Antony Enrique Tello Salgado
Dirección del cliente : Urb. Santa María G-16 Arequipa
RUC : No corresponde
Identificación del contacto : Yesica Miriam Alvarez Choque
Descripción de la muestra : Extracto acuoso de la Llantén

INFORMACIÓN DEL ENSAYO

Condición del muestreo : Por el cliente
Tamaño de muestra : 5 mL
Fecha de recepción : 07/01/2020
Fecha de ejecución de ensayo : 07/01/2020 al 15/01/2020
Fecha de emisión de informe : 15/01/2020
Página : 1 de 2

I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:

ANÁLISIS	RESULTADO
DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS	Se determinó
Metodología thin layer chromatography (TLC)	presencia de: terpenos

OBSERVACIONES:

- La información proporcionada por el cliente es de responsabilidad exclusiva del mismo.
- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento previo y transporte de la muestra hasta el ingreso al LECC son responsabilidad del solicitante y los resultados emitidos en el presente informe se refieren a la muestra tal como se recibió.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad


 Q.F. Ricardo A. Abril Ramírez
 COPIA 09824
 ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD LECC





UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166
✉ laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Apto. 1350
AREQUIPA - PERÚ



INFORME DE ENSAYO N° ANA07A20.004466B

INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE

Nombre del cliente : Antony Enrique Tello Salgado
Dirección del cliente : Urb. Santa María G-16 Arequipa
RUC : No corresponde
Identificación del contacto : Yesica Miriam Alvarez Choque
Descripción de la muestra : Extracto acuoso de la Llantén

INFORMACIÓN DEL ENSAYO

Condición del muestreo : Por el cliente
Tamaño de muestra : 5 mL
Fecha de recepción : 07/01/2020
Fecha de ejecución de ensayo : 07/01/2020 al 15/01/2020
Fecha de emisión de informe : 15/01/2020
Página : 2 de 2



DETERMINACIÓN GENERAL DE METABOLITOS SECUNDARIOS

Fase Móvil: Acetato de etilo metanol agua (4:0,5: 0,40)
Revelador: Vainillina (1%) Ácido Sulfúrico (5%) 100 °C





UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166
 ✉ laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Aptdo. 1350
 AREQUIPA - PERU



INFORME DE ENSAYO N° ANA07A20.004466A

INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE

Nombre del cliente : Antony Enrique Tello Salgado
Dirección del cliente : Urb. Santa María G-16 Arequipa
RUC : No corresponde
Identificación del contacto : Yesica Miriam Alvarez Choque
Descripción de la muestra : Extracto etanólico de la Llantén

INFORMACIÓN DEL ENSAYO

Condición del muestreo : Por el cliente
Tamaño de muestra : 5 mL
Fecha de recepción : 07/01/2020
Fecha de ejecución de ensayo : 07/01/2020 al 15/01/2020
Fecha de emisión de informe : 15/01/2020
Página : 1 de 2

I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:

ANÁLISIS	RESULTADO
DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS Metodología thin layer chromatography (TLC)	Se determinó presencia de: terpenos, di terpenos, saponinas terpenoidales y aceites esenciales

OBSERVACIONES:

- La información proporcionada por el cliente es de responsabilidad exclusiva del mismo.
- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento previo y transporte de la muestra hasta el ingreso al LECC son responsabilidad del solicitante y los resultados emitidos en el presente informe se refieren a la muestra tal como se recibió.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad


 Q.F. Ricardo A. Abril Ramírez
 C.O.P.D.A 00824
 ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD LECC





UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166
✉ laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Aptdo. 1350
AREQUIPA - PERÚ



INFORME DE ENSAYO N° ANA07A20.004466A

INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE

Nombre del cliente : Antony Enrique Tello Salgado
Dirección del cliente : Urb. Santa María G-16 Arequipa
RUC : No corresponde
Identificación del contacto : Yesica Miriam Alvarez Choque
Descripción de la muestra : Extracto etanólico de la Llantén

INFORMACIÓN DEL ENSAYO

Condición del muestreo : Por el cliente
Tamaño de muestra : 5 mL
Fecha de recepción : 07/01/2020
Fecha de ejecución de ensayo : 07/01/2020 al 15/01/2020
Fecha de emisión de informe : 15/01/2020
Página : 2 de 2



DETERMINACIÓN GENERAL DE METABOLITOS SECUNDARIOS

Fase Móvil: Acetato de etilo metanol agua (4:0,5: 0,40)

Revelador: Vainillina (1%) Ácido Sulfúrico (5%) 100 °C



ANEXO 4: ANÁLISIS TAXONÓMICO

Ubicación taxonómica de la especie

Reino: Plantae

División : Magnoliophyta

Clase : Magnoliopsida

Orden : Lamiales

Familia : Plantaginaceae

Género : Plantago

Especie : Plantago major L.

Nombre común : Llantén

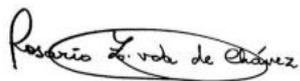
Descripción botánica de la especie:

Planta herbácea acaule, puede alcanzar hasta 40 cm. de altura. Hojas arrosetadas, largamente pecioladas ovado-elípticas, curvinervias.

Inflorescencia: Del centro de las hojas nace un escapo floral que lleva a la inflorescencia espiciforme.

Flores pequeñas hermafroditas, actinomorfas. Cáliz 4-partido, persistente. Corola gamopétala, limbo 4-lobulado. Androceo: estambres 4, insertos en el tubo de la corola. Ovario súpero bicarpelar.

Fruto: Cápsula cónica dehiscente transversalmente. Con numerosas semillas de color pardo.



Dra. Rosario Zegarra vda de Chávez

Profesora Escuela de Agronomía