

**UNIVERSIDAD PRIVADA DE TACNA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**



**“Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Muña (*Minthostachys Mollis*) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175”**

**TESIS**

**Presentado por:**

Bach. Vanessa del Rocio, Menéndez Villanueva

(0009-0009-6672-024X)

**Asesora:** Mag. Esp. Karina Portugal Motocanche

(0000-0002-5803-0582)

Para optar por el Título Profesional de:

Cirujano Dentista

Tacna - 2024

## DEDICATORIA

**A Dios**, por protegerme siempre, me ha dado el valor para afrontar los problemas y superar los obstáculos, cuidándome en todo mi camino y no pierda la Fe.

**A mis padres**, Fernando y Antonia gracias a su sacrificio, protección, por estar ahí siempre que necesitaba su gran ayuda, tener su respaldo durante esta travesía académica, me alentaron cuando todo se ponía difícil. Definitivamente soy muy afortunada de tenerlos conmigo, los amo profundamente y espero que se sientan orgullosos de mí.

**A mis abuelos**, Vicente y Aida mis tarateños, aunque ahora ya no estén presentes siempre están en mi corazón y mente.

**A mis hermanas**, Katty siempre recordaré tu apoyo que me has brindado, gracias Karina por decirme siempre que no me rinda en este largo camino, ella sigue ayudándome a través de los años, nada de esto sería posible sin ti lograrlo. Sabes que eres como una segunda mamá para mí.

**A mis perritos**, Scott, Corina, por ser de gran apoyo emocional que con su mirada pueden entender todo y entendí que los ángeles a veces llegan a tu vida en cuatro patas.

**A mí**, poniendo todo mi esfuerzo físico y emocional en cumplir mi sueño que siempre quise ser una odontóloga.

## **AGRADECIMIENTOS**

Gracias a Dios y a la Virgen de Copacabana por bendecirme cada día, cuidarme y darme fuerzas durante todos estos años para poder realizar uno de mis más grandes sueños.

A mi Asesora Mg. Esp. Karina Portugal Motocanche por la disposición, paciencia y apoyarme con esta investigación.

A la Mg. Esp. Ytala Meléndez Condori por escucharme, apoyarme, por sus consejos y preocupación.

Al Biólogo. Edwin Obando Velarde por su colaboración y su apoyo en la ejecución del presente trabajo.

A la Dra Nelly Kuong Gómez por su apoyo, comprensión, mi gratitud hacia Usted y por ser una pieza importante para esta Universidad.

A todos los doctores que fueron parte de mi formación académica, por su apoyo y predisposición en este largo camino académico en especial a la Dra. Yesica Condori, Dr. Jorge Montoya, Dr. Elard Núñez y Dra. Fiorella Andia por su ayuda en la Clínica cuando atravesé dificultades físicas que me impedía movilizarme, gracias por su empatía.

DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD

Yo, Vanessa del Rocio Menéndez Villanueva, en calidad de Bachiller de la Escuela Profesional de Odontología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Privada de Tacna, identificado con DNI 72949741, declaro bajo juramento que:

1. Soy autor de la tesis titulada:

"Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Múña (Mintostachys mollis) frente a Streptococcus mutans ATCC 25175"

Asesorada por Mag. Esp. Karine Portugal Motocanche, la cual presente para optar el: Título Profesional de Cirujano Dentista.

2. La tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente, habiéndose respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.

3. La tesis presentada no atenta contra los derechos de terceros.

4. La tesis no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.

5. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falsificados, ni duplicados, ni copiados.

Por lo expuesto, mediante la presente asumo frente a La Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la tesis, así como por los derechos sobre la obra.

En consecuencia, me hago responsable frente a La Universidad de cualquier responsabilidad que pudiera ocasionar, por el incumplimiento de lo declarado o que pudiera encontrar como causa del trabajo presentado, asumiendo todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse de ello a favor de terceros con motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontrasen causa en el contenido de la tesis.

De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que el trabajo de investigación haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de nuestra acción se deriven, sometiéndonos a la normatividad vigente de la Universidad Privada de Tacna.

V.B.

DNI: 72949741

Fecha: 02/10/2024

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175. **Material y método:** El estudio fue experimental, se obtuvo el aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) por el método de destilación por arrastre de vapor de agua, de 10kg de muña se logró obtener 40 ml de aceite y luego fue diluido para conseguir concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%, se utilizó clorhexidina al 0,12 % como control positivo y control negativo el agua destilada. Para la prueba de difusión de disco de Kirby Bauer se realizó sobre medios de Mueller Hinton Agar (MHA), inoculado con ***Streptococcus mutans*** a 37°C bajo anaerobiosis total por 24 horas. **Resultados:** Del estudio por CG-EM se evidenció básicamente 2 componentes primordiales: Mentona (32.9%) y Eucaliptol (28.06%). Se determinó el efecto antibacteriano frente a ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175 en las diferentes concentraciones mencionadas, como resultado se obtuvo al 25% de < 6 mm de diámetro es decir sensibilidad nula (-), 50% de 14.1425 mm es decir entre sensible (+) y muy sensible (++) , 75% de 15.7388 mm, es decir muy sensible (++) y 100 % de 18.3038 mm es decir entre muy sensible (++) y sumamente sensible (+++), según en la Escala de sensibilidad de Duraffour y Lapraz. **Conclusión:** Se evidenció el efecto antibacteriano 50%, 75% y 100%, solo en el caso de la concentración del 25% resultó ser nula frente a ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175.

**Palabras clave:** Efecto antibacteriano, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM), ***Streptococcus mutans***.

## ABSTRACT

**Objetivo:** Determine the vitro antibacterial effect of Muña (*Minthostachys mollis*) essential oil against *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Material and method:** The study was experimental, the essential oil of Muña (*Minthostachys mollis*) was obtained by the distillation method by steam drag, from 10kg of muña it was possible to obtain 40 ml of oil and then it was diluted to achieve concentrations of 25%, 50%, 75% and 100%, 0.12% chlorhexidine was used as a positive control and control distilled water is negative. For the Kirby Bauer disk difusión test, it was performed on Mueller Hinton Agar (MHA) media, inoculated with *Streptococcus mutans* at 37°C under total ananerobiosis for 24 hours. **Results:** The GC-MS study basically showed 2 main components: menthone (32.9%) and eucalyptol (28.06%). Antibacterial effect was determined against *Streptococcus mutans* ATCC 25175 in all concentrations, as a result, 25% of 6 mm diameter was obtained, that is, zero sensitivity (-), 50% of 14.1425 mm, that is, between sensitive (+) and very sensitive (++) , 75% of 15.7388 mm, i.e. very sensitive (++) and 100% of 18.3038 mm i.e. between very sensitive (++) and extremely sensitive (+++), on the Duraffoourd sensitivity scale and Lapraz. **Conclusion:** The antibacterial effect was evident at 50%, 75% and 100%, only in the case of the 25% concentration it turned out to be null against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Key words:** Antibacterial effect, gas chromatography coupled to mass spectrometry (CG-EM), *Streptococcus mutans*.

# ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>12</b>
<b>CAPITULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN</b>	
1.1 Fundamentación del problema.....	14
1.2 Formulación del problema.....	15
1.3 Objetivos de la investigación.....	15
1.3.1Objetivo general.....	15
1.3.2Objetivos específicos.....	15
1.4 Justificación.....	16
<b>CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	
2.1 Antecedentes de investigación.....	18
2.2 Marco Teórico.....	22
2.2.1 Minthostachys mollis.....	22
2.2.1.1 Taxonomía.....	23
2.2.1.2 Composición química.....	23
2.2.1.3 Propiedades.....	24
2.2.1.3.1 Propiedades medicinales.....	24
2.2.1.4 Beneficios en la salud.....	24
2.2.1.5 Valor nutricional.....	24
2.2.1.6 Propiedades físico-químicas.....	25
2.2.1.7 Utilidad de la especie minthostachys mollis.....	25
2.2.2 Streptococcus mutans.....	26
2.2.2.1 Concepto.....	26
2.2.2.2 Taxonomía.....	26
2.2.2.3 Características.....	26
2.2.2.4 Hábitat.....	27
2.2.2.5 Medio de cultivo.....	27
2.2.3 Caries dental.....	27
2.2.3.1 Concepto.....	27
2.2.3.2 Prevalencia.....	27

2.2.3.3 Etiología.....	28
<b>CAPITULO III: HIPOTESIS, VARIABLE Y DEFINICIONES OPERACIONALES</b>	
3.1 Hipótesis.....	29
3.2 Variables.....	29
3.3 Operacionalización de variables.....	30
<b>CAPITULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN</b>	
4.1 Diseño de la investigación.....	31
4.1.1 Diseño.....	31
4.1.2 Tipo de investigación.....	31
4.2 Ámbito de estudio.....	31
4.3 Muestra y unidad de estudio.....	31
4.3.1 Criterios de inclusión.....	32
4.3.2 Criterios de exclusión.....	32
4.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos.....	33
4.5 Materiales e Equipos de laboratorio.....	33
<b>CAPITULO V: PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE DATOS</b>	
5.1 Recolección de la planta.....	35
5.1.1 Procedimiento de recolección.....	35
5.1.2 Identificación de <i>Minthostachys mollis</i> (muña).....	35
5.2 Obtención del aceite esencial de la muña.....	35
5.2.1 Dilución del aceite esencial de la muña.....	36
5.3 Obtención del <i>Streptococcus mutans</i> .....	37
5.3.1 Activación de la cepa bacteriana.....	37
5.4 Preparación de los discos de sensibilidad.....	37
5.5 Determinación de la sensibilidad antibacteriana.....	38
5.6 Lectura de resultados.....	39
5.7 Análisis estadístico.....	40
5.8 Consideraciones Éticas.....	40
<b>CAPITULO VI: RESULTADOS.....</b>	<b>41</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>54</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>57</b>

<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>59</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>60</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>64</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

**TABLA 1:** Compuestos químicos del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) identificados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM).

**TABLA 2:** Resultados estadísticos descriptivos del efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a **Streptococcus mutans** ATCC 25175 al 25%.

**TABLA 3:** Resultados estadísticos descriptivos del efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a **Streptococcus mutans** ATCC 25175 al 50%.

**TABLA 4:** Resultados estadísticos descriptivos del efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a **Streptococcus mutans** ATCC 25175 al 75%.

**TABLA 5:** Resultados estadísticos descriptivos del efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a **Streptococcus mutans** ATCC 25175 al 100%.

**TABLA 6:** Resultados de los estadísticos descriptivos del efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a **Streptococcus mutans** ATCC 25175 al 25%,50%,75% y 100%.

**TABLA 7:** Prueba de normalidad de Shapiro- Wilk para muestras del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a **Streptococcus mutans** ATCC 25175.

**TABLA 8:** Resultados del análisis de varianza.

**TABLA 9:** Comparaciones múltiples, prueba Post Hoc, de Tukey.

## ÍNDICE DE FIGURAS

**FIGURA 1:** Diagrama de cajas del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a **Streptococcus mutans** ATCC 25175 al 25%, 50%, 75%, 100% y clorhexidina al 0.12%.

**FIGURA 2:** Diagrama de barras de error del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a **Streptococcus mutans** ATCC 25175 al 25%, 50%, 75%, 100% y clorhexidina al 0.12%.

**FIGURA 3:** Gráfico de líneas del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a **Streptococcus mutans** ATCC 25175 al 25%, 50% ,75%, 100% y clorhexidina 0.12%.

## INTRODUCCIÓN

La caries dental es una disbiosis, que se presenta como un cambio en el equilibrio y la relación entre distintas especies de microorganismos de la flora bucal. Este proceso se muestra básicamente por la elevada ingesta de azúcares fermentables, que conlleva a una disolución química situada en la superficie dentaria que, a su vez, es causado por eventos metabólicos que ocurren en la placa dental. El proceso carioso inicia como una lesión de mancha blanca que se forma por la desmineralización del esmalte. (1)

En el 2022, la Organización Mundial de la Salud (OMS), refiere que el 45% de la población mundial padece de enfermedades bucodentales, haciendo énfasis en la problemática global actual. (2)

Por su parte el Ministerio de Salud – Minsa, indica que existe una alta morbilidad de caries dental que afecta al 90.4% de la población (3), en especial en edad escolar de 3 a 15 años, existe una prevalencia del 85.6%, lo que significa que nueve de cada diez escolares padecen caries dental, siendo una preocupación en la salud pública de nuestro país. (4)

La caries dental continúa siendo una principal preocupación en la salud bucal, el desarrollo de la caries dental dependerá de las bacterias existentes en la cavidad oral, ya que podemos encontrar más de 700 especies bacterianas, dentro de ellas podemos resaltar a la familia de los ***Streptococcus, Lactobacillus, y Porphyromonas***, quienes participan en el desarrollo de enfermedades bucales más prevalente, como la caries dental y enfermedad periodontal. (5)

El ***Streptococcus mutans***, es una bacteria anaerobia facultativa, tiene forma de coco, crece en cadena, considerado la principal bacteria cariogénica ya que produce ácidos, metaboliza la sacarosa y produce polisacáridos extracelulares que destruyen el tejido dentario y ayudan a la adhesión sobre la superficie dentaria respectivamente. (6)

El Perú es considerado uno de los países más diversos del mundo por su gran variedad biológica ya que posee una gran cantidad de plantas naturales medicinales que tienen muchos beneficios para la salud entre ellas están la maca (*Lepidium meyenii*), el matico serrano (*Jungia paniculata*), hierba santa (*Piper auritum*), sangre de grado (*Croton lechleri*), la uña de gato (*Uncaria tomentosa*), chuchuhuasi (*Maytenus macrocarpa*) y la muña. (7)

*Minthostachys mollis*, conocida comúnmente como muña, oriunda del Perú, proviene de la altura de la sierra en regiones andinas especialmente Apurímac, Cusco, Puno y

Tacna. En la ciudad de Tacna se encuentra en la provincia de Tarata, abunda en los meses de Diciembre hasta Mayo, se encuentra en grandes cantidades.

Hoy en día la muña la podemos encontrar mediante infusiones, extracto, licores entre otros, se han realizado investigaciones acerca del efecto antibacteriano, antimicrobiano, antifúngico entre otros, que tiene el aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) en distintos microorganismos. (8)

En la actualidad se conoce que el aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) posee un efecto antibacteriano en diversas bacterias bucales, así como *Porphyromonas gingivalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* (8), *Enterococcus faecalis* (9), *Staphylococcus epidermidis* y *Escherichia coli*. (10) (11)

Por este motivo, la presente investigación tiene como objetivo determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175.

# CAPÍTULO I

## EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1 FUNDAMENTACION DEL PROBLEMA

*Streptococcus Mutans* es el más importante patógeno que fomenta la caries dental. En la boca hallamos un gran número de bacterias aerobias y anaerobias, aproximadamente 700 especies, de Streptococos principalmente especies mutans (serotipos c,e,y f, sanguis, sobrinus y cricetus), se han asociado con caries. (12)

En la actualidad se reconoce 17 países megadiversos, de los cuales 8 se localizan en América Latina: Perú, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, México, Venezuela y Bolivia. De las especies vegetales existentes, menos del 10 % ha sido examinadas científicamente con fines terapéuticos. Se calcula por lo menos 15.000 plantas terapéuticas ya están en amenaza de perderse según la Organización Peruana de la Salud (OPS) en el año 2019. (7)

Perú cuenta con mucha biodiversidad y gran riqueza natural, en ella podemos encontrar una gran variedad de plantas medicinales que ayudan a prevenir enfermedades a la población.

La flora a nivel mundial se compone de 250.000 especies, de las cuales el 10 % se encuentra en el Perú. También se considera que sólo el 60 % de la vegetación del Perú ha sido estudiada y 1408 han sido de uso medicinal. (7)

Debemos aprovechar nuestra diversidad vegetal, más aún cuando tenemos a nuestro alcance plantas medicinales que nuestros antepasados utilizaron anteriormente para combatir enfermedades, y sus múltiples beneficios que puede mejorar las vías respiratorias y aparato digestivo, asimismo propiedades propias de la planta natural y como conservante de alimentos por su propiedad antimicrobiana. (13)

Por ello el interés de realizar esta investigación, así poder validar científicamente el efecto antibacteriano y de beneficios de la muña en el área de odontología.

Adicionalmente, hoy en día la población en su mayoría tiene una tendencia hacia el interés de los productos naturales libres de aditivos químicos que puedan ayudar a combatir enfermedades por lo que resulta interesante investigar más sobre esta

planta a través del aceite esencial que pueda tener un efecto antibacteriano frente al ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175.

## 1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a ***Streptococcus Mutans*** ATCC 25175)?

## 1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

### 1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175.

### 1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) al 25% frente a ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) al 50% frente a ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) al 75% frente a ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) al 100% frente a ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175.
- Comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a la clorhexidina al 0.12% sobre el ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175.

## 1.4 JUSTIFICACIÓN

La caries dental es un problema de salud en el Perú y por eso se formula la necesidad de averiguar una forma de controlar y prevenir en base a odontología alternativa, a través de plantas medicinales que nos ofrece la naturaleza y aprovecharla como una opción de tratamiento. Con este estudio se busca investigar una fuente natural como la muña (*Minthostachys Mollis*) para contrarrestar al ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175 cepa relacionada a la caries dental de allí la importancia de esta investigación.

Sabiendo que se ha desarrollado estudios en relación a la efectividad de esta planta en diversas bacterianas bucales, el propósito es determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175.

Con nuestros resultados ayudaremos a futuras investigaciones para proseguir con la línea de investigación y plantear una alternativa más natural y económica ante el uso de la muña de nuestra región, asimismo poder contribuir con información en el área de la Odontología y despejar dudas sobre los beneficios de la muña.

Está investigación es factible ya que se tiene al alcance el insumo que es la Muña (*Minthostachys mollis*), la cual se obtuvo de la Provincia de Tarata, lo que es fácil de encontrar en los meses Diciembre hasta Mayo. Con respecto a los equipos y materiales al usar se contó con el laboratorio de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann (UNJBG) para determinar el efecto antibacteriano, además se obtuvo la ayuda de un biólogo especializado en proyectos experimentales y con su apoyo se desarrolló correctamente la ejecución de la investigación.

Este estudio es de interés porque conlleva a contribuir e investigar las propiedades de la planta medicinal oriunda de nuestra región a través de su aceite esencial y es una fuente natural para contrarrestar el ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175 cepa relacionada a la caries dental.

Este trabajo de investigación es novedoso, al no tener estudios sobre el aceite esencial de la Muña (*Minthostachys mollis*) de nuestra Región. En la literatura, generalmente se puede encontrar estudios tanto Nacionales e Internacionales que evaluaron el efecto antibacteriano del aceite esencial de la Muña (*Minthostachys mollis*) en otras bacterias orales.

Este estudio cumplió con los principios éticos respetando la vida, salud y derechos de las personas.

Esta investigación es relevante ya que aporta conocimiento científico porque se realizó en un laboratorio con todo el protocolo estricto para conseguir resultados sin error y presenta base para futuras investigaciones en la odontología para que se pueda establecer una preparación de un producto viable en la práctica odontológica.

Según la línea de investigación de la EPO este trabajo está relacionado a la innovación tecnológica y biomateriales dentales y aporta en impulsar la exploración en el campo experimental.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

##### Investigaciones Internacionales

**Torrenegra M et al. “Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys Mollis*”; Colombia: 2016**

Trabajo de carácter experimental, cuyo objetivo evaluó la composición química y la actividad antibacteriana del aceite esencial de muña de la región de Norte de Santander, Colombia. El método que se usó para la extracción del aceite esencial de esta planta fue a través del método hidrodestilación.

Para saber los componentes químicos de la planta a través de su aceite esencial se realizó CG-EM. Luego se analizó la actividad antibacteriana de 3 bacterias: *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermis* ATCC 12228 y *E. coli* ATCC 25922.

Para establecer la sensibilidad antibacteriana y CMI del aceite se disolvió la concentración deseada (1000-50 µg/mL) y se usó el procedimiento de microdilución en caldo, para el control positivo se usó gentamicina sulfato (0.016 mg/mL) y se realizó su lectura de las microplacas para cuantificar el crecimiento bacteriano.

Según los resultados, el aceite esencial de *Minthostachys mollis* tenía una alta materia de mono terpenos oxigenados como Timol (13.11 %), Carvacrol (21.24 %), Eucaliptol (10.04 %) y Pulegona (9.84 %) y demostró actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermis* ATCC 12228 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Esta investigación concluyó que la muña analizada es prometedora en el control del componente bacteriano. (10)

**Campo M et al. “Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* griseb contra el *Staphylococcus Aureus*”; Ecuador: 2019**

Esta investigación de tipo experimental, evaluaron la estructura química y actividad antibacteriana del aceite esencial de esta planta contra *S. aureus*, se obtuvo el aceite esencial a través de la combinación de hojas y flores (Mp1) y partes aéreas (Mp2) de la planta proveniente de Quito.

Para la realización de la combinación de hojas y flores se usó el método de hidrodestilación para adquirir el aceite esencial y fue evaluado a través de (CG-EM).

La investigación tuvo como resultado en (CG-EM) que consiguió determinar terpenoides, básicamente de clase monoterpenos y con elementos de mayoría en hojas y flores, Neomentol (32.34%), Pulegona (28.42%) y Mentona (19.32%); en tanto en la parte del tallo domino el Geraniol (24.93%) y el Citronelol (14.84%). Para la determinación in vitro de la actividad antibacteriana tuvo como resultado los halos de inhibición Mp1 de 25 mm, mientras que para la Mp2 fue de 23 mm, con estos resultados concluyó que el aceite esencial de esta planta obtenida por Mp1 contiene un alto efecto frente a la cepa de *S. aureus*. (11)

## Investigaciones Nacionales

### **Huari G. “Efecto Antibacteriano in vitro del Aceite Esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en *Streptococcus Mutans*”; Perú: 2014**

Trabajo de carácter experimental, cuyo objetivo fue determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Muña en *S. mutans* de la ciudad de Tarma (Junín). El procedimiento que usó para la obtención del aceite esencial fue por el método de arrastre de vapor de agua. Se obtuvieron concentraciones de 25%, 50%, y 100% y con un control positivo (amoxicilina).

Los resultados que se dio a conocer que el 100% demuestra considerablemente un efecto antibacteriano en la cepa mutans teniendo un halo de inhibición (10.79 mm) comparándolo con el 50 % (7.6 mm) y 25 % (5 mm) y con la amoxicilina (control positivo) fue (49.3mm).

Utilizando el rango Duraffourd dio como resultado 100 % en actividad sensible (+) en *Streptococcus mutans*. Con el resultado facilitará seguir investigando para el empleo de la muña en productos odontológicos y pueda llegar a la población como una alternativa natural.

Llegó a la conclusión que el efecto antibacteriano del aceite esencial de esta planta al 100% era inferior al de la amoxicilina control positivo. (14)

### **Navarro Y. “Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de muña (*minthostachys mollis*), comparado con la clorhexidina al 0.12% en cepas del *Streptococcus mutans*”; Perú :2020**

Esta investigación de tipo experimental, se planteó evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de muña mediante estudio in vitro y contrastar con el control positivo (clorhexidina al 0.12%) sobre el *Streptococcus mutans*.

Para la obtención del aceite fue a través de la técnica destilación por arrastre de vapor de agua, se extrajeron los tallos y las flores de la planta de la localidad de Salcedo-Jayllihuaya situada en Puno y se hizo una comparación con varias concentraciones al 100%, 75%, 50% y 25%. El control positivo fue clorhexidina al 0.12% y el control negativo agua destilada.

El efecto antibacteriano a un 25% de concentración de la sustancia aromática de la planta de la muña resultó un promedio de 11.377 mm, a un 50% resultó un promedio de 12.67 mm, a un 75% demostró un promedio de 13.76 mm y a un 100% tuvo un promedio de 14.99 mm, comparado los resultados de la CHX al 0.12% alcanzó un 19.276 mm.

En conclusión, considerando los resultados al 25%, 50%, 75% y 100% se encuentran dentro del intervalo de eficacia, a través de estos resultados nos facilita demostrar científicamente que tiene un efecto antibacteriano el aceite esencial de muña. (15)

**Bonifacio R. “Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hoja de *Minthostachys mollis* sobre *Streptococcus Mutans* ATCC 25175”; Perú: 2019**

Estudio de carácter experimental, cuyo objetivo fue examinar el efecto in vitro de 4 concentraciones de la sustancia aromática de la muña a través de sus hojas frente ***S. mutans***.

Para lograr la sustancia aromática de esta planta se efectuó a través la técnica de hidrodestilación, se recolectó los tallos de muña proveniente de la sierra del distrito de Otuzco del Departamento de la Libertad. Luego se realizó diferentes concentraciones al 5%, 10%, 25% y 50%. Para el efecto antibacteriano usó la técnica método de difusión en agar. Los resultados que obtuvieron son al 5% fue 9.6 mm, 10% fue 10.3 mm, 25% fue 17.9 mm y 50% fue 22.9 mm. Con estos resultados se llegó a la conclusión que la sustancia aromática de muña al 50% tiene una alta eficacia frente al ***S. mutans*** en estudio in vitro a diferencia de aquellas 3 concentraciones más que se realizó anteriormente. (16)

## 2.2 MARCO TEÓRICO

### 2.2.1 MINTHOSTACHYS MOLLIS

Científicamente conocido como *Minthostachys mollis* en la lengua quechua nuestros ancestros la conocían como “Muña” y en el idioma aymara posee 2 nombres: “Coa” y “Huaycha”.

En Sudamérica en la zona andina se le puede encontrar esta planta aromática en diferentes altitudes de varios países entre ellos está el Perú, Argentina, Colombia, Bolivia, Ecuador y Venezuela. (15)

En nuestro país se puede encontrar en gran parte de la sierra del Perú entre 2500 – 3500 m.s.n.m aproximadamente como los departamentos de Cusco, Puno, Tacna entre otros. Y podemos encontrar en nuestra región de Tacna en la serranía de Tarata en gran abundancia en los meses de Diciembre hasta Mayo.

En la época pre-inca fue reconocida por sus propiedades medicinales y nuestros ancestros los hombres de los andes utilizaban la muña porque posee un alto porcentaje de Ca y P clave para favorecer el desarrollo y sostenimiento de los huesos y dientes.



### 2.2.1.1 TAXONOMÍA

- Nombre Científico: *Minthostachys mollis*
- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliophyta
- Orden: Lamiales
- Familia: Lamiaceae
- Subfamilia: Nepetoideae
- Género: *Minthostachys mollis*
- Especie: *Minthostachys mollis* (Benth) Griseb
- Nombre común: Muña

### 2.2.1.2 COMPOSICION QUÍMICA

*Minthostachys mollis* seca aproximadamente 100gr (17).

COMPONENTES	CANTIDAD
Energía	299 kcal
Agua	16g
Proteínas	3.2g
Grasas	2.8g
Carbohidratos	66.3g
Fibra	9.4g
Ceniza	11.7
Calcio	2237g
Fósforo	269mg
Hierro	22.4mg
Retinol	306mg
Tiamina	0.35mg
Riboflavina	1.81mg
Niacina	6.85mg
Ácido ascórbico reducido	0.0085mg

### 2.2.1.3 PROPIEDADES

#### 2.2.1.3.1 PROPIEDADES MEDICINALES

##### **DIURÉTICO:**

Una de las mejores opciones para obtener una adecuada digestión o para molestias estomacales se recomienda la muña y adicionalmente se utiliza para gases.

##### **EXPECTORANTE POR NATURALEZA:**

En el caso de molestias respiratorias es muy bueno como expectorante y limpia las vías respiratorias.

##### **FORTALECE LOS HUESOS:**

Si deseamos obtener huesos fornidos y eludir la osteoporosis se recomienda utilizar la muña que también beneficia al Sistema NC, impedir la descalcificación y respalda a la mejoría de las fracturas óseas.

#### 2.2.1.4 BENEFICIOS DE LA SALUD

- Elimina la gastritis y parásitos intestinales
- Previene el malestar de mal de altura
- Favorece el sistema nervioso
- Ayuda a eliminar gases y cólicos estomacales
- Posee alto contenido de calcio y fortalece los huesos
- Evitar la osteoporosis
- Su ungüento es utilizado para sanar afecciones reumáticas, fracturas, luxaciones y golpes. (18).

#### 2.2.1.5 VALOR NUTRICIONAL (19)

COMPONENTES	POR 100 Gr
Calorías	268 g
Energía	1,121 kJ
Grasa total	2.8 g
Carbohidratos totales	66.3 g
Proteínas	3.2 g
Calcio	2.237 mg
Fósforo	269mg

<b>Hierro</b>	22.4mg
<b>Agua</b>	16.0 g
<b>Cenizas</b>	11.7 g
<b>Vitamina A</b>	306 µg

### 2.2.1.6 PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS (14) (20)

<b>Aspecto</b>	<b>Líquida, clara, transparente</b>
<b>Color</b>	Incoloro
<b>Olor</b>	Característico en menta
<b>Sabor</b>	Picante
<b>Densidad relativa</b>	0.92
<b>Índice de refracción</b>	1.4699
<b>Solubilidad en alcohol al 70 %</b>	55
<b>Índice de mentona</b>	33.88%
<b>Índice de menta</b>	22%
<b>Índice de acidez</b>	1.682
<b>Índice de esteres</b>	5.819
<b>Rotación específica</b>	-2
<b>Índice de éter</b>	16.80 %
<b>Contenido de mentol total</b>	4.042 %
<b>Solubilidad en etanol</b>	95 %

### 2.2.1.7 UTILIDAD DE LA PLANTA

La población conoce al *Minthostachys mollis* por su uso digestivo contra los cólicos, náuseas, indigestión, tos seca, asma, expectorante, espasmos musculares, aliviar el dolor, disminuir la inflamación entre otros. Es perfecto para la halitosis y prevenir el malestar del dolor de cabeza como de altura.

Asimismo, es empleado como aliño para sazonar platos peruanos. En otras áreas se utiliza en el mantenimiento de materia prima agrícola como los tubérculos.

También como limpiador orgánico natural contra antimoho. En diferentes lugares de Latinoamérica se encuentra la muña, pero especialmente en el Perú se utiliza como aromatizante y para elaborar licores como bebidas con esta planta natural. (10)

## 2.2.2 ESTREPTOCOCCUS MUTANS

### 2.2.2.1 CONCEPTO

Se tiene como conocimiento que el ***Streptococcus mutans*** es Gram positivo y con una forma de coco, anaerobio facultativo dispuesto en serie pequeñas de 4 a 6 cocos, con un tamaño de 0.5 a 0.8 um, inmóvil, catalasa negativo y generador del ácido láctico. (21) (22). La bacteria más señalada de la caries y la formación de placa.

Berkowitz et al. han considerado que el ***S. mutans*** es el principal patógeno de la caries dental. (23)

### 2.2.2.2 TAXONOMIA

<b>REINO</b>	<b>Bacteria</b>
<b>CLASE</b>	Bacilli
<b>FAMILIA</b>	Streptococcaceae
<b>GÉNERO</b>	Streptococcus
<b>ESPECIE</b>	<b><i>Streptococcus mutans</i></b>

### 2.2.2.3 CARÁCTERÍSTICAS

Esta bacteria está dispuesta por cadenas simples e inmóviles, capaz de fermentar carbohidratos haciendo habitable a la placa bacteriana y diversas bacterias. Dispone de un medio de pH 7 (alcalino o básico) a pH 4.2 (ácido) aprox a lo largo 24 horas. (24)

Las bacterias acidógenas y el ***Streptococcus Mutans*** generan ácido láctico, propiónico entre otros es ahí donde empieza la relación con los hidratos de carbono (sacarosa, glucosa, fructuosa, etc.) que los ácidos se

expanden hacia el esmalte, cual este procedimiento se llamaría desmineralización. La desmineralización y remineralización es un proceso dinámico, es el producto del metabolismo microbiano, es por eso que así inicia el proceso de la caries dental. (25) (26)

#### **2.2.2.4 HABITAT**

En la cavidad bucal la superficie dental es su hábitat. Persiste en la cavidad oral luego de la etapa de erupción dentaria, ya que su proliferación requiere fundamentalmente de la existencia de un órgano duro no descamativo. Sus colonias se dirigen a adherirse a la superficie del diente conectándose con otros streptococcus y bacterias, asimismo se pueden hallar en las lesiones cariosas. (25)

#### **2.2.2.5 MEDIO DE CULTIVO**

El cultivo infusión de cerebro-corazón (BHI) es el medio de cultivo utilizado para *S. mutans*. En la mayoría de los casos, es el método más eficaz para cultivar bacterias resistentes como el neumococo y el estreptococo. (27) (28)

### **2.2.3 CARIES DENTAL**

#### **2.2.3.1 CONCEPTO**

La caries dental es una disbiosis, que se muestra básicamente por el alto consumo de azúcares fermentables. Es un cambio en el equilibrio y la relación entre distintas especies de microorganismos en la flora bucal.

También es una disolución química ubicada en la superficie del diente causada por eventos metabólicos que ocurre en la placa dental y cubre el área afectada. Estos eventos metabólicos son llamados como el proceso carioso. (1)

#### **2.2.3.2 PREVALENCIA**

El Ministerio de Salud (Minsa) indica que existe una alta morbilidad de esta patología ya que afecta al 90.4% de su población (1), en especial en la edad temprana desde los 5 años.

En la edad escolar existe una prevalencia de 3 a 15 años en un 85.6% por lo tanto nueve de cada diez escolares padecen esta enfermedad que es una preocupación en la salud pública de nuestro país. (2)

### **2.2.3.3 ETIOLOGIA**

Posiblemente el factor etiológico que tiene suma importancia en la caries dental, es la ingesta de la sacarosa, especialmente su constante consumo.

Las bacterias de la cavidad oral, principalmente **S. Mutans**, son metabolizadas por la sacarosa. La patogenicidad de estas bacterias varía en función de sus rasgos individuales o de sus interacciones con otras bacterias (biopelículas). (29)

## CAPÍTULO III

### HIPOTESIS, VARIABLES Y DEFINICIONES OPERACIONALES

#### 3.1 HIPÓTESIS

**HO:** El aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) no presenta efecto antibacteriano en estudio in vitro frente a ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175.

**H1:** El aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) presenta efecto antibacteriano en estudio in vitro frente a ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175.

#### 3.2 VARIABLES

##### Variable independiente

Aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*)

##### Variable dependiente

Efecto Antibacteriano

### 3.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	INDICADOR	TIPO	ESCALA	VALOR FINAL
EFFECTO ANTIBACTERIANO	Diámetro de los halos de inhibición	Cuantitativa	Razón	mm
MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA)	Aceite esencial de Muña (Minthostachys Mollis)	Cualitativa	Ordinal	Concentración al 25 % Concentración al 50% Concentración al 75 % Concentración al 100 %
	Clorhexidina (control +)	Cualitativa	Nominal	Clorhexidina al 0.12 %

# CAPÍTULO IV

## METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN

### 4.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

#### 4.1.1 DISEÑO

Esta investigación es experimental, porque se utilizó la técnica de cultivo in vitro inoculados con **S. mutans** ATCC 25175 para lo cual se aplicó en discos embebidos con aceite esencial de muña en distintas concentraciones como 100%, 75%,50% y 25%.

#### 4.1.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Es un proyecto experimental debido que se ejecutó de forma in vitro el efecto del aceite esencial de muña a distintas concentraciones ante **S. mutans**.

- **Trasversal** porque se experimentó el fenómeno en un determinado intervalo de tiempo.
- **Prospectivo** porque los datos recopilados son de primera fuente. Ocurren en el momento que se diseña la investigación.
- **Analítico** porque se analizaron los resultados investigados para averiguar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la Muña ante la cepa bacteriana estudiada.

### 4.2 ÁMBITO DE ESTUDIO

Este estudio se realizó en las instalaciones del laboratorio de la Universidad Privada de Tacna para la adquisición del aceite esencial de Muña y también se ejecutó en la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann (UNJBG) en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Biológicas para determinar el efecto antibacteriano.

### 4.3 MUESTRA Y UNIDAD DE ESTUDIO

Unidad de estudio: Se llevó a cabo a través de las placas Petri el sembrado con **S. mutans** en varias concentraciones con aceite esencial de Muña.

Unidades de muestreo microbiano: Colonia de microorganismos de **S. mutans** ATCC 25175.

Unidades de muestreo biológico: Aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) en distintas cantidades.

Muestra:

Previamente, se contó con la ayuda de un estadístico que nos guió con nuestros datos. Se instaló el software con los datos obtenidos de nuestros antecedentes investigados, luego se colocó los datos al G\*Power para obtener resultados de las cantidades de repeticiones que se vaya hacer y todo este proceso es a priori.

Tamaño de la muestra: (Ver Anexo 1)

The screenshot displays the G\*Power software interface for an ANOVA test. The 'Test family' is set to 'F tests' and the 'Statistical test' is 'ANOVA: Fixed effects, omnibus, one-way'. The 'Type of power analysis' is 'A priori: Compute required sample size - given  $\alpha$ , power, and effect size'. The 'Input Parameters' section includes: Effect size f (3.822975),  $\alpha$  err prob (0.05), Power (1 -  $\beta$  err prob) (0.80), and Number of groups (4). The 'Output Parameters' section includes: Noncentrality parameter  $\lambda$  (116.9211), Critical F (6.5913821), Numerator df (3), Denominator df (4), Total sample size (8), and Actual power (0.9996172). On the right, a table shows the distribution of groups:

Group	Mean	Size
1	18.1787	8
2	15.945	8
3	16.4713	8
4	6	8

Below the table, the 'Equal n' option is selected with a value of 8, resulting in a 'Total sample size' of 32. The 'Effect size f' is confirmed as 3.822975. Buttons for 'Calculate', 'Calculate and transfer to main window', and 'Close' are visible.

Es así que se obtuvo 4 grupos experimentales con concentración de aceite esencial de Muña al 100%, 75%, 50% y 25%, 02 grupos controles, control positivo y negativo, con 8 repeticiones para cada grupo.

#### 4.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Activación de cepa **S. mutans** ATCC 25175.
- Cajas de Petri con agar BHA estériles.
- Hojas y tallos de *Minthostachys mollis* (muña) en buen estado, sin hongos.

#### 4.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Cepas de **S. mutans** que no se han sembrado correctamente.
- Cajas de Petri dañadas en el proceso de ejecución.
- Hojas y tallos de *Minthostachys Mollis* (muña) en mal estado, con hongos.

## 4.4 TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### 4.4.1 TÉCNICA

Se empleó en esta investigación la técnica de observación directa.

### 4.4.2 INSTRUMENTO

Los resultados obtenidos fueron anotados en una ficha creada propia para registrar el diámetro de los halos de cada concentración en mm. (Anexo 3 y 4)

## 4.5 MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO

### 4.5.1 EQUIPO Y MATERIAL PARA LA OBTENCIÓN DEL ACEITE

- Hojas y talluelos de *Minthostachys mollis*
- Agua destilada
- Balanza
- Vaso de precipitado
- Balón de fondo plano
- Base
- Papel Kraft
- Sacos

### 4.5.2 MATERIALES PARA LA ELABORACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

- Agar Mueller Hinton (MH)
- Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI)

### 4.5.3 INSTRUMENTOS Y MATERIALES PARA EL EXAMEN DE SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA

- *Streptococcus mutans* ATCC 25175
- Discos de papel filtro estériles
- H<sub>2</sub>O
- Aceite esencial de *Minthostachys Mollis*
- Micropipetas de 10 µl, 100 µl
- Discos de sensibilidad x 50 und.
- Jarra anaerobiosis
- Tubo 0.5 de Mc. Farland

- Agua destilada
- Clorhexidina 0.12%
- Asa de Kolle
- Asa de siembra Drigalsky
- Ron industrial
- Mechero
- Puntas descartables para micropipetas
- Papel aluminio
- Papel Kraft y papel filtro
- Pavilo
- Encendedor

#### **4.5.4 INSTRUMENTOS Y MATERIALES PARA CUANTIFICAR RESULTADOS Y OTROS**

- Vernier digital
- Cámara fotográfica
- Lápiz
- Calculadora
- Cubrebocas descartables
- Guantes quirúrgicos descartables
- Mandil
- Marcadores
- Cuadro de recopilación de datos.

## CAPÍTULO V

### PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE DATOS

#### 5.1 RECOLECCIÓN DE LA PLANTA

##### 5.1.1 PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN

Se recolectaron hojas verdes y talluelos de muña (*Minthostachys mollis*) del Distrito de Tarata, Departamento de Tacna ubicado a (3080 m.s.n.m) en los terrenos de Tukinbaya, Sirca, Hiscacahua.

Las cuáles fueron mantenidas en condiciones correctas y requerimientos apropiados y a temperatura ambiente sin desecarlo. Se llegó a juntar 10 kg de esta materia prima.

##### 5.1.2 IDENTIFICACIÓN DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA)

Se solicitó la taxonomía del ejemplar de la planta andina que fue llevada a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann (UNJBG) para su Identificación a la Dra. Rosario Zegarra Viuda de Chávez, y se tuvo como resultado de la muestra como *Minthostachys mollis* (Griseb). (Anexo 2).

#### 5.2 OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA

Para la adquisición del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) se procedió mediante la forma descrita por Huari (14): El procedimiento que se usó fue el método de destilación con arrastre de vapor de agua, es el que más se recomienda porque no utiliza ningún solvente.

Se colocó 10 kg *Minthostachys mollis* en un balón de fondo plano, asimismo que la materia prima no tenga comunicación de frente con el agua, después se calentó separando el vapor del agua, en instantes se percibió la entrada del vapor de agua sometiendo el aceite esencial por medio de los refrigerantes de vidrio, luego recolectado en una pera de decantación; se dejó en reposo hasta percibir el apartamiento del agua y del aceite seguidamente su decantación. Después se filtró y por último se obtuvo 40 mL de aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) que se puso en un frasco sellado ámbar marcado y se conservó en refrigeración a 4°C hasta su uso.

## 5.2.1 DILUCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA

Determinación de la densidad:

Donde:

d = densidad (g/ml)

m = masa (g)

v= volumen (ml)

m= 0.021 g

v = 1ml

$$D = \frac{m}{v}$$

$$d = \frac{0.021 \text{ g}}{1 \text{ ml}}$$

1ml

$$d = 0.021 \text{ g/ml}$$

$$1000 \text{ mg} \dots\dots\dots 1 \text{ g}$$

$$X \dots\dots\dots 0.021 \text{ g}$$

$$X = 21 \text{ mg/ml}$$

$$21 \text{ mg} \dots\dots\dots 1000 \text{ ul}$$

$$0.63 \text{ mg} \dots\dots\dots 30 \text{ ul}$$

Después de haber obtenido el aceite esencial de Muña puro se realizó seguidamente las diluciones del aceite aplicando un solvente TWEEN 80 descrito por Bonifacio. (16)

<b>Concentración al 75 %</b>	750ul de A.E de muña <u>Tween 80</u> (250ul)
<b>Concentración al 50 %</b>	500ul de A.E de muña <u>Tween 80</u> (500ul)
<b>Concentración al 25 %</b>	250ul de A.E de muña <u>Tween 80</u> (750ul)

Luego pasó por vibrador unos 30 segundos para una buena dilución y se envolvió los frascos con papel aluminio para su conservación hasta su utilización y refrigerarlo.

### **5.3 OBTENCIÓN DEL STREPTOCOCCUS MUTANS**

La cepa bacteriana que se trabajó en esta investigación es el ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175. Se pudo conseguir de la empresa distribuidora de cepas microbiana liofilizadas GenLab.

#### **5.3.1 ACTIVACIÓN DE LA CEPA BACTERIANA**

La activación de la cepa bacteriana se empleó en un medio de caldo B.H.I (infusión cerebro – corazón).

Se realizó el preparado caldo infusión cerebro- corazón (caldo BHI) luego se procedió a colocar en un tubo con caldo B.H.I (infusión cerebro – corazón) y luego se sembró con un asa de Kolle por suspensión incubándolo por 24 horas a 37°C. Todo este procedimiento se realizó a lado de un mechero encendido con alcohol aprox. 15-20 cm de la flama para obtener una zona aséptica.

Luego se sembró en Agar y de ahí el siguiente paso fue sembrarlo en caldo. Siguiendo el protocolo descrito por Mendo (30): se esterilizó el asa de Kolle o asa de siembra por flameo y como estuvo en altas temperaturas (hasta que esté rojo) se dejó enfriar y con eso aseguramos su esterilización. Con el tubo de ensayo de vidrio se hizo un pequeño declive, se abrió suavemente para impedir alguna contaminación con microorganismos del entorno. Se evitó el contacto con las paredes, se insertó el asa bacteriológica en el tubo de ensayo, luego se retiró el asa cuidadosamente.

Inmediatamente se tomó el vial y se abrió delicadamente y se usó el método de siembra por agotamiento en estrías. Fue llevado a 24 horas a 37°C bajo anaerobiosis total.

A partir del vial con Agar se trasladó la bacteria a caldo BHI por 2-3 horas bajo anaerobiosis total. Pasado el tiempo se verificó la estandarización según la escala de 0.5 de Mc Farland, consiguiendo la misma turbidez que el patrón de la escala de Mc Farland ( $1.5 \times 10^8$  UFC/ml)

#### **5.4 PREPARACIÓN DE LOS DISCOS DE SENSIBILIDAD**

Se empleó discos de sensibilidad prefabricados de la marca Oxoid que fueron adquiridos a la distribuidora Medi.Lab.S.R.L.

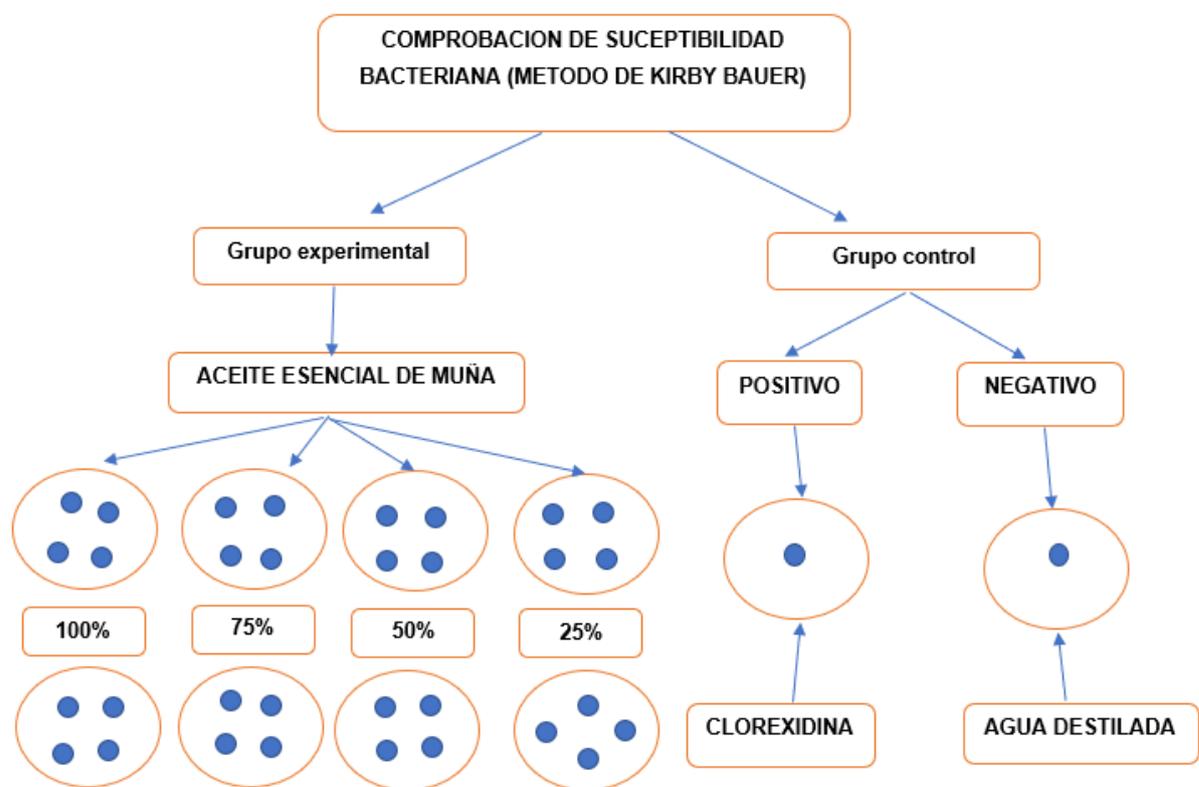
Los discos pasaron por un proceso de desnaturalización, para ello, se colocó en un vaso de precipitado de 100 ml con HO<sub>2</sub> a la autoclave a 121 °C a lo largo de 15 min para su esterilización a calor húmedo. Se procedió al retiro del agua, luego de los 15 minutos se repartió los discos de sensibilidad marca Oxoid húmedos en las paredes del vaso de precipitado, luego se trasladó hacia la estufa por 30 minutos a 180 °C para su esterilización por calor seco.

## 5.5 DETERMINACION DE LA SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA (MÉTODO DE KIRBY BAUER)

El método que se usó para este estudio es la difusión de disco de Kirby Bauer (31) para determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*).

- A) Elaboración del agar Muller Hinton: Se realizó el preparado de Agar Mueller Hinton y se repartió en 10 placas Petri en total distribuidas 8 placas Petri para las concentraciones y 2 placas para los controles positivo y negativo. Se elaboró MHA con las indicaciones del autor, para después ser colocado en las placas Petri anticipadamente esterilizadas y aguardar hasta que solidifico. Se verificó el tubo inoculado con el del tubo 0.5 en la escala de Mc Farland (1.5x10 UFB/ml) al analizar la turbidez se procedió con el proceso.
- B) Método siembra por diseminación o siembra por superficie: Continuando el protocolo detallado por Mendo (30), en cada placa Petri con el agar Muller Hinton se colocó la turbidez 0.1ml o 100µl de caldo BHI inoculado con cepa de ***Streptococcus mutans*** con la ayuda de asa de Digralsky se va a diseminar y lo dejamos secar y este procedimiento se realizó en todas las placas Petri a usar. Mientras tanto se procedió al marcado de las placas Petri.
- C) Aplicación de los discos: En una placa se dividió en 4 para tener una separación los discos de cada porcentaje 100%, 75%, 50% y 25%. Para colocar la solución de aceite esencial respectivamente con ayuda de una micropipeta. También se usó para el control positivo y negativo placas. Se agarró una pinza estéril y se colocó en cada recuadro 8 discos de papel de filtro empapado de aceite esencial de muña 100% (30 µl), 8 discos de papel de filtro empapado de la mezcla de aceite esencial 75% de muña (30 µl), 8 discos de papel de filtro empapado de la mezcla de aceite esencial al 50% de muña (30 µl) y por último 8 discos de papel de filtro empapado de la mezcla de aceite esencial al 25% de muña (30 µl). El control positivo con

clorhexidina y el negativo con agua destilada. Luego en cada placa Petri que estuvo ya listo con Agar Muller Hilton se colocó 4 discos de papel de filtro empapado de aceite esencial de muña 100% (30 ul), 4 discos de papel de filtro empapado de aceite esencial de muña 75% de muña (30ul), 4 discos de papel de filtro empapado de la mezcla de aceite esencial al 50% de muña (30 ul) por ultimo 4 discos de papel de filtro empapado de la mezcla de aceite esencial al 25% de muña (30 ul). El control positivo con clorhexidina y el negativo agua destilada. Luego las placas Petri se empaquetaron en papel craft y pasaron a la jarra de anaerobiosis total a 37 °C por una duración de 24 horas.



Fuente: Elaboración propia.

## 5.6 LECTURA DE RESULTADOS

Posteriormente se hizo una interpretación y se midió los halos de inhibición en milímetros con el apoyo del vernier digital.

Para el análisis de los resultados se realizó la comparación con la escala de sensibilidad de Duraffourd y Lapraz.

Para evidenciar la susceptibilidad que posee los microorganismos en relación al diámetro de halo de inhibición del crecimiento bacteriano.

Nula (-)	menor a 8 mm
Sensibilidad limite (sensible = +)	entre 8 a 14 mm
Medio (muy sensible = ++)	entre 14 y 20 mm
sumamente sensible (+++).	Y por último mayor a 20 mm

Los resultados observados se encuentran anotado en la hoja de datos. (Anexo 3 y 4)

## 5.7 ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados conseguidos se registraron en una ficha, después los datos fueron trasladados a una hoja de cálculo en el programa Microsoft Excel 2019 Windows minuciosamente para evitar errores. Se empleó SPSS Statistics para Windows en su versión 27.0 para examinar la información cuidadosamente. Luego los datos expuestos se realizaron tablas y figuras con estadística descriptiva.

Se determinó que la información posee una distribución normal efectuando la prueba de Shapiro- Wilk, para elegir la estadística inferencial.

Luego para la prueba estadística inferencial paramétrica se empleó la prueba de Análisis de la Varianza (ANOVA) para demostrar la diferencia entre medias de los grupos analizados, luego se utilizó la Prueba Post Hoc de Tuckey para comparaciones múltiples.

## 5.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este estudio se rige a través del código de ética de la Universidad Privada de Tacna, el cual abarca los principios y compromisos de la investigación. Este estudio no llevó a causar ningún tipo de daño a los participantes, investigadores y a la comunidad, lo cual no afectó de alguna manera ni física o psicológicamente.

## CAPÍTULO VI

### RESULTADOS

En una primera fase se realizó en las instalaciones del laboratorio de la Universidad Privada de Tacna para la extracción del aceite esencial de Muña.

En una segunda fase se ejecutó las instalaciones del laboratorio de Biología y Microbiología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann (UNJBG) para determinar el efecto antibacteriano mediante el método de Kirby Bauer.

Por último, se entregó la muestra de la sustancia aromática de Muña (*Minthostachys mollis*) a la Institución de Educación Superior Privada UCSM de Arequipa para la realización de identificación de los componentes químicos del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) sometiéndolo a (CG-EM).

A través de los resultados obtenidos se pudo realizar tablas, gráficos y figuras con los datos alcanzados.

**Tabla 1:** Compuestos químicos de la sustancia aromática de Muña (*Minthostachys mollis*) por Cromatografía de Gases.

No.	Compuestos	TR (min)	CANTIDAD (%)
1	Alfa – Pineno	7,970	3,2
2	Beta – Pineno	8,130	3,51
3	Benceno, -1-metil-2-(1-metiletil)	9,275	9,69
4	Eucaliptol	9,505	28,06
5	Formiato de 1,6-octadien-3-ol,3,7-dimetilo	10,930	1,4
6	Acetato de octen -1-ol	11,035	5,76
7	Ciclohexanona,5-metil-2-(1-metiletil)-, cis- mentona	12,195	2,19
8	Mentona	12,435	32,9
9	Ciclohexanona,5-metil-2-(1-metiletil)-, trans - mentona	13,770	11,99
10	Gamma - Elemeno	17,850	1,3

TR= Tiempo de retención medido en minutos

### INTERPRETACIÓN:

La tabla 1, muestra los compuestos químicos de la sustancia aromática de Muña (*Minthostachys mollis*). El análisis que se realizó fue a través del método de Cromatografía de Gases (CG-EM) para conocer sus componentes orgánicos de la sustancia aromática de la Muña. Esta tabla detalla 10 componentes de los cuales hay 2 principales: Mentona (32.9%) y Eucaliptol (28.06%).

**Tabla 2:** Resultados estadísticos descriptivos del efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175 al 25%.

Concentración	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	Varianza
25%	8	<6,00	<6,00	<6,00	0,00000	0,00000

### INTERPRETACIÓN:

Se percibe en esta tabla 2, que la sustancia aromática de esta planta en una concentración al 25% mostró un mínimo de <6.00 mm, un máximo de <6.00 mm, y una media <6,00 mm y con desviación típica de 0.00000 mm. En la escala de sensibilidad de Duraffourd y Lapraz se encuentra nula (-) todos fueron menores de 6 mm.

**Tabla 3:** Resultados estadísticos descriptivos del efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a **Streptococcus mutans** ATCC 25175 al 50%.

Concentración	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	Varianza
50%	8	13,18	14,90	14,1425	0,62278	0,388

#### INTERPRETACIÓN:

Se percibe en esta tabla 3, que la sustancia aromática de esta planta en una concentración al 50 % mostró efecto antibacteriano, con un mínimo de 13.18 mm, un máximo de 14.90 mm, una media 14.1425 mm y con desviación típica de 0.62278 mm. En la escala de sensibilidad de Duraffourd y Lapraz se encuentra entre sensible (+) y muy sensible (++) .

**Tabla 4:** Resultados estadísticos descriptivos del efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a **Streptococcus mutans** ATCC 26175 al 75%.

Concentración	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	Varianza
75%	8	14,42	17,60	15,7388	1,25071	1,564

#### **INTERPRETACIÓN:**

Se percibe en esta tabla 4, para una concentración del 75% de la sustancia aromática de esta planta mostró efecto antibacteriano, con un mínimo de 14.42 mm, un máximo de 17.60 mm, una media 15.73 mm y con desviación típica de 1.25071 mm. En la escala de sensibilidad de Duraffourd y Lapraz se encuentra en muy sensible (++) .

**Tabla 5:** Resultados estadísticos descriptivos del efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 al 100%.

Concentración	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	Varianza
100%	8	17,15	20,26	18,3038	1,10745	1,226

### INTERPRETACIÓN:

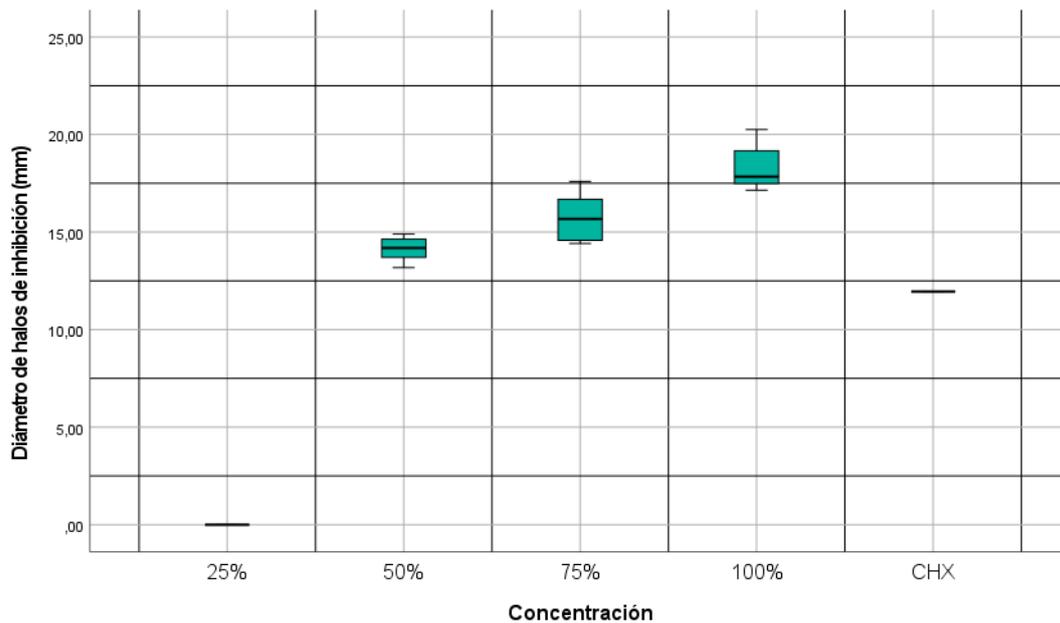
Se percibe en esta tabla 5, para una concentración del 100 % de la sustancia aromática de esta planta mostró efecto antibacteriano, con un mínimo de 17.15 mm, máximo de 20.26 mm, media de 18.30 mm y con desviación típica de 1.10745 mm. En la escala de sensibilidad de Duraffourd y Lapraz se encuentra entre muy sensible (++) y sumamente sensible (+++).

**Tabla 6:** Resultados estadísticos descriptivos del efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 al 25%, 50%, 75% y 100%.

Concentración	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% de intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inf.	Límite sup.		
25%	8	<6,00	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000	<6,00	<6,00
50%	8	14,1425	0,62278	0,22018	13,6218	14,6632	13,18	14,90
75%	8	15,7388	1,25071	0,44219	14,6931	16,7844	14,42	17,60
100%	8	18,3038	1,10745	0,39154	17,3779	19,2296	17,15	20,26
CHX	8	11,9600	0,00000	0,00000	11,9600	11,9600	11,96	11,96

### INTERPRETACIÓN:

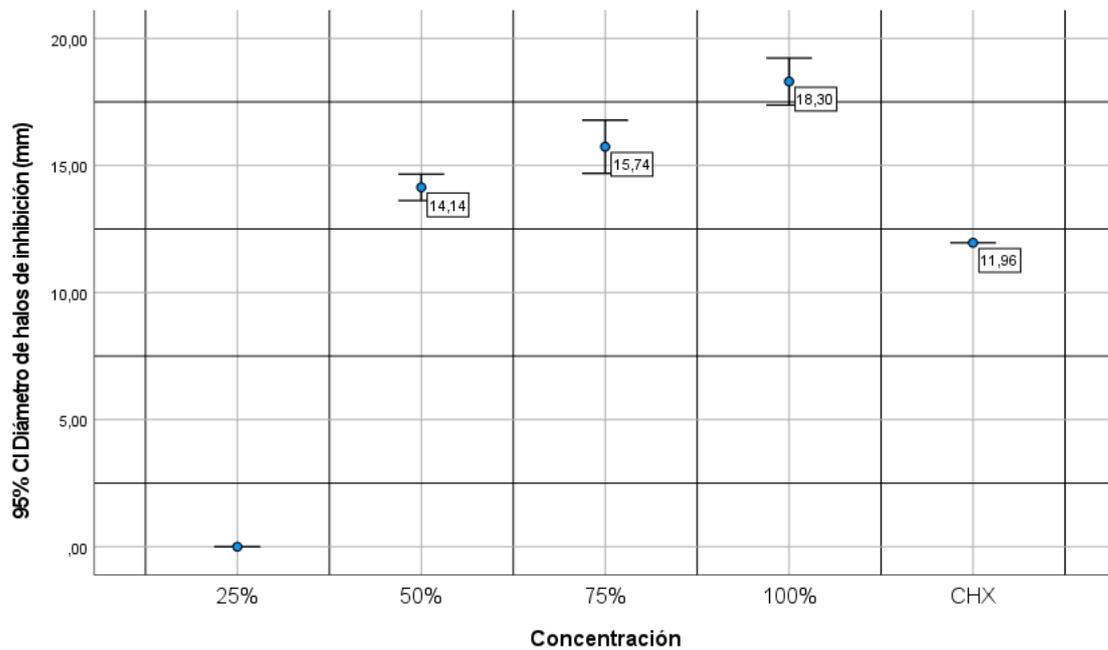
Se percibe en esta tabla 6, al examinar el efecto antibacteriano de la sustancia aromática de esta planta a diversas concentraciones se observa que, para una concentración de 25% el efecto es nulo (-), para una concentración del 50% entre sensible (+) y muy sensible (++), para la concentración del 75% obtiene muy sensible (++) y para la concentración del 100% entre muy sensible (++) y sumamente sensible (+++), es decir el efecto antibacteriano se comporta de manera proporcional y creciente a la concentración.



**Figura 1:** Diagrama de cajas del aceite esencial de Muña (*Menthastachys mollis*) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 al 25%, 50%, 75%, 100% y clorhexidina 0.12%.

### INTERPRETACIÓN:

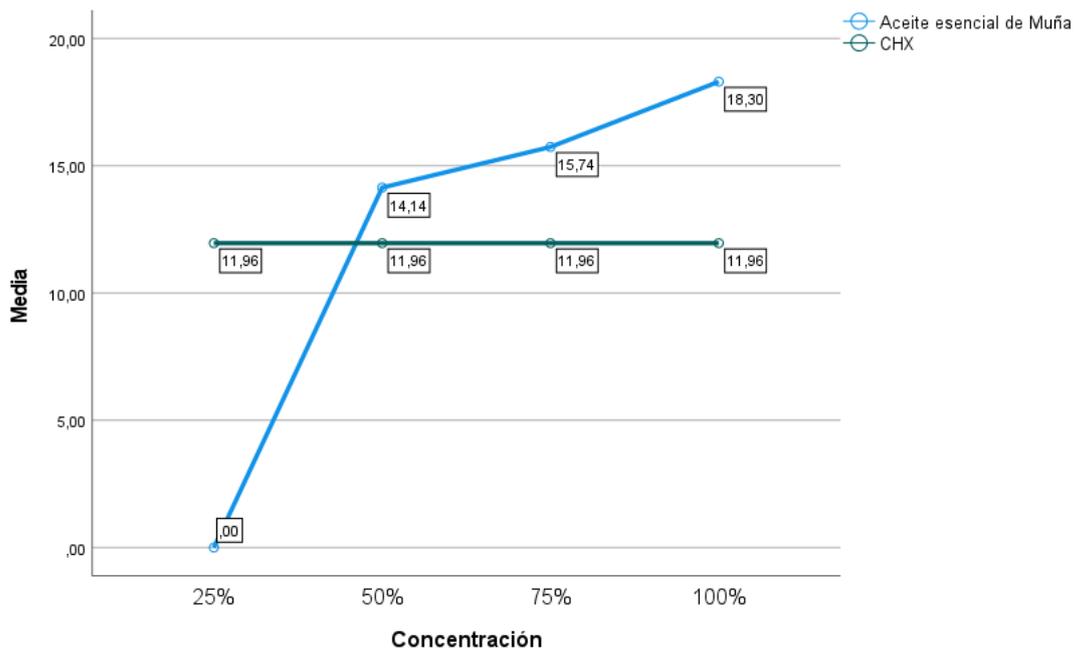
A excepción de la concentración del 25 % que es nula, el diagrama de cajas de la Figura 1 de la sustancia aromática de Muña a distintas concentraciones demuestra un efecto antibacteriano creciente contra *S. mutans* ATCC 25175 al 50%, 75% y 100% superando la eficacia antibacteriana de la clorhexidina 0.12 %.



**Figura 2:** Diagrama de barras de error del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 al 25%, 50%, 75%, 100% y clorhexidina 0.12%.

### INTERPRETACIÓN:

A excepción de la concentración del 25 %, todas las concentraciones de sustancia aromática de Muña superan el efecto antibacteriano a la clorhexidina, como se muestra en el gráfico de barras de error de la Figura 2 comúnmente conocida como intervalo de confianza.



**Figura 3:** Grafico de líneas del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 al 25%, 50%, 75%, 100% y clorhexidina 0.12%

### INTERPRETACIÓN:

La Figura 3 se percibe, haciendo un comparativo del efecto antibacteriano de la sustancia aromática de esta planta a distintas concentraciones con el efecto antibacteriano de la clorhexidina, se puede observar que para la concentración de 25% el efecto antibacteriano es nulo, a partir del 50% de concentración a más, el efecto de la sustancia aromática de Muña es mayor que el efecto que presenta la clorhexidina, como se puede ver en la Figura 3.

## CONTRASTE DE HIPÓTESIS

Para verificar si los diámetros de los halos de crecimiento (mm) cumplen con el criterio de normalidad a través de la prueba Shapiro – Wilk por medición y grupo de estudio.

**Tabla 7:** Prueba de normalidad de Shapiro – Wilk para muestras del aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*) frente a **S. mutans** ATCC 25175.

Concentración	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
25%	-	8	-	-	8	-
50%	0,236	8	,200*	0,906	8	0,324
75%	0,251	8	0,146	0,865	8	0,134
100%	0,267	8	0,096	0,890	8	0,233
CHX	0,213	8	,200*	0,944	8	0,653

H0: Los datos se distribuyen de manera normal.

H1: Los datos se distribuyen de manera No normal.

### INTERPRETACIÓN:

Se percibe en esta tabla 7, los resultados que comprende la prueba de normalidad de Shapiro – Wilk. Cuando los datos son menores a 50 se realiza la prueba de normalidad de Shapiro – Wilk en este caso la investigación corresponde.

También en esta tabla nos presenta que los valores p ó significancia son mayores a 0.05 por lo que aprobamos H0. Por ende, se debe aplicar una prueba Paramétrica de análisis de varianza (ANOVA). También para argumentar la diferencia de medias entre los grupos estudiados se desarrolló la prueba de ANOVA.

**Tabla 8:** Resultados del análisis de varianza

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Halo promedio (mm)	Entre grupos	1618,426	4	404,606	636,459	<0,001
	Dentro de grupos	22,250	35	0,636		
	Total	1640,676	39			

**HO:** El aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) no presenta efecto antibacteriano en estudio in vitro frente a ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175.

**H1:** El aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) presenta efecto antibacteriano en estudio in vitro frente a ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175.

#### **INTERPRETACIÓN:**

Se percibe en esta tabla 8, que se desarrolló la prueba de ANOVA para indicar la diferencia de medias entre los resultados del efecto antibacteriano de las diferentes concentraciones de la sustancia aromática de Muña y la clorhexidina. De acuerdo a esta tabla, se observa que el p-valor o significancia es menor a 0.05. Por lo siguiente, la sustancia aromática de Muña presenta efecto antibacteriano frente a ***Streptococcus Mutans*** ATCC 25175 y este efecto es diferente para las diferentes concentraciones.

**Tabla 9:** Comparaciones múltiples, prueba Post Hoc, de Tukey.

(I) Concentración	(J) Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
25%	50%	-14,14250*	0,39866	<0,001	-15,2887	-12,9963
	75%	-15,73875*	0,39866	<0,001	-16,8849	-14,5926
	100%	-18,30375*	0,39866	<0,001	-19,4499	-17,1576
	CHX	-11,96000*	0,39866	<0,001	-13,1062	-10,8138
50%	25%	14,14250*	0,39866	<0,001	12,9963	15,2887
	75%	-1,59625*	0,39866	0,003	-2,7424	-0,4501
	100%	-4,16125*	0,39866	<0,001	-5,3074	-3,0151
	CHX	2,18250*	0,39866	<0,001	1,0363	3,3287
75%	25%	15,73875*	0,39866	<0,001	14,5926	16,8849
	50%	1,59625*	0,39866	0,003	0,4501	2,7424
	100%	-2,56500*	0,39866	<0,001	-3,7112	-1,4188
	CHX	3,77875*	0,39866	<0,001	2,6326	4,9249
100%	25%	18,30375*	0,39866	<0,001	17,1576	19,4499
	50%	4,16125*	0,39866	<0,001	3,0151	5,3074
	75%	2,56500*	0,39866	<0,001	1,4188	3,7112
	CHX	6,34375*	0,39866	<0,001	5,1976	7,4899
CHX	25%	11,96000*	0,39866	<0,001	10,8138	13,1062
	50%	-2,18250*	0,39866	<0,001	-3,3287	-1,0363
	75%	-3,77875*	0,39866	<0,001	-4,9249	-2,6326
	100%	-6,34375*	0,39866	<0,001	-7,4899	-5,1976

\*La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05

### INTERPRETACIÓN:

Se percibe en esta tabla 9, las comparaciones múltiples a través de la prueba Post Hoc de Tukey, es decir, se realizó las comparaciones inter grupo de estudio en forma independiente, se puede observar que la columna de significancia (Sig.), los p-valores son menores a 0.05 en todas las comparaciones uno a uno entre los grupos, por lo tanto, todos los grupos son diferentes.

## DISCUSIÓN

Hoy en día, una de las problemáticas más frecuente de la salud pública son las enfermedades bucales. La población tiene una alta frecuencia en primer lugar a la caries dental y en segundo lugar enfermedad periodontal. El agente bacteriano fundamental de una de las enfermedades bucodentales más comunes es el ***S. mutans***.

En los últimos años, la población tiene mayor interés a las alternativas terapéuticas, como los productos naturales. Se han realizado estudios sobre uso de agentes naturales como una nueva propuesta de carácter preventivo o de tratamiento con un solo fin de querer constatar su efecto sobre la cepa ***Streptococcus mutans*** entre otras bacterias de la cavidad oral.

En el campo de la salud la muña ha estado considerablemente empleada como digestiva, antiinflamatoria, respiratoria, antiséptica, lo cual permite aliviar dolores o enfermedades. Esta investigación trata de determinar el efecto antibacteriano de una de las plantas oriundas del Perú como la muña. Destacando el uso del aceite esencial de la muña Peruana – Tarateña para este estudio, haciendo énfasis que de igual manera que la muña de diferentes países de América Latina, la muña de origen Tarateño presenta efecto antibacteriano para disminuir el ***S. Mutans*** en la cavidad bucal y por lo tanto minorar una de las enfermedades más comunes de la cavidad oral.

El primer paso realizado fue obtener la materia prima como es la muña que se encuentra en la sierra de nuestra Región de Tacna específicamente en la Provincia de Tarata luego se efectuó la extracción de la sustancia aromática de la muña para luego enviar una muestra para la realización de una cromatografía de gases y a través de estos resultados saber los componentes de químicos que contiene. Los principales compuestos químicos de la sustancia aromática de muña identificados fueron: Mentona (32.9%), Eucaliptol (28.06%), Ciclohexanona,5-metil-2-(1-metiletil)-,trans - mentona (11.99%), Benceno,-1-metil-2-(1-mentiletil)(9.69%),Acetato de octen -1-ol (5.76%),Beta-Pineno (3.51%),Alfa- Pineno (3.2%), Ciclohexanona,5-metil-2-(1-metiletil)-cis-mentona (2.19%), Formato de 1.6-octadien-3-ol,3.7-dimetilo (1.4%) y Gamma.-Elemeno

(1.3%); en este sentido, hay resultados semejantes en cuanto a la existencia de algunos componentes mencionados.

Torrenegra M y cols. (9) en esta investigación mostraron la composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis* según el análisis por cromatografía de gases identificando los componentes: Timol (13.11%), Carvacrol (21.24%), Eucaliptol (10.04%) y Pulegona (9.84%) estos son los componentes primordiales que se hallaron. En este caso encontramos coincidencia con nuestra muestra la presencia de Eucaliptol, pero en diferentes porcentajes, demostrando que nuestro aceite esencial tiene mayor porcentaje de Eucaliptol (28.06 %) a diferencia de la investigación realizada en Colombia.

Campo M y Cols. (10) en dicho artículo mostraron la composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis* según el análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). Se identificaron los siguientes compuestos en Mp1 (hojas y flores) el neomentol (32.34%), pulegona (28.42%) y mentona (19.32%), en tanto Mp2 (partes aéreas) dominó el geraniol (24.93%) y el citronelol (14.84%). En este caso encontramos coincidencia con nuestra muestra la presencia de Mentona, pero en diferentes porcentajes, demostrando que nuestro aceite esencial tiene un mayor porcentaje de mentona (32.9 %) a diferencia de la investigación mencionada de Ecuador.

Hay similitudes respecto a los componentes químicos pero diferentes en cuanto a porcentajes esto puede originarse a diferentes circunstancias: donde se tomó la materia prima de la planta, condiciones ambientales, condiciones del cultivo, época de cosecha, la región, diferentes nutrientes que tiene la propia tierra del lugar y distintos factores que pueden influir a la materia prima.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) al 25%, 50%, 75% y 100% frente a *Streptococcus mutans* y se observaron halos de inhibición de sensibilidad <6mm, 14.1425 mm, 15.7388 mm y 18.3038 mm correspondientemente, actuando un efecto antibacteriano sobre esta cepa bacteriana.

Huari G (14) en su investigación concluyó que la sustancia aromática de muña dispone de efecto antibacteriano sobre el *S. mutans* solo en el 100% de

concentración con un halo de 10.79 mm siendo sensibilidad límite (sensible = +) según la escala de sensibilidad de Duraffourd a diferencia de sus otras diluciones que se realizaron al 50% de 7.6 mm y 25% de 5 mm.

Navarro Y (15) en su investigación presentó efecto antibacteriano en todas sus concentraciones sobre el ***S. mutans*** con estos resultados al 25% un 11.37 mm, al 50% un 12.67 mm, al 75% un 13.76 mm y al 100 % un 14.99 mm, mientras tanto en la clorhexidina al 0.12% consiguió un 19.276 mm. Sabiendo los resultados al 25%, 50%, 75% y 100% se sitúan dentro del intervalo de eficacia. El efecto antibacteriano se intensifica a medida que aumenta la concentración. Con respecto a nuestro estudio podemos estar de acuerdo la sustancia aromática de muña tiene efecto antibacteriano, pero no estamos de acuerdo en que la clorhexidina al 0.12% sea mayor a la muña ya que tenemos diferentes porcentajes que nos distingue.

Bonifacio R (16) en su estudio evidenció que la materia prima que usó tiene efecto antibacteriano ya que obtuvo halos de inhibición 9.6 mm, 10.3 mm, 17.9 mm y 22.9 mm usando concentraciones de 5%, 10%, 25%, 50%. Indicando así los resultados que el aceite esencial *Minthostachys mollis* tiene efecto sobre ***Streptococcus mutans***. Estamos de acuerdo en que el aceite esencial de muña tiene efecto antibacteriano a mayores concentraciones, basándonos en nuestro estudio de investigación y en los resultados obtenidos.

## CONCLUSIONES

1. Se determinó la existencia de efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Muña frente a ***S. mutans*** ATCC 25175, demostrando un efecto antibacteriano positivo por el método de difusión de discos Kirby Bauer.
2. Se determinó que no hay efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña al 25% de concentración frente a ***S. mutans*** ATCC 25175, todas las muestras resultaron menores a 6 mm, es decir, sensibilidad nula (-).
3. Se determinó el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Muña para una concentración del 50% frente a ***S. mutans*** ATCC 25175, igual a  $14.1425 \pm 0.5207$  mm ( $p < 0.05$ ), es decir, entre sensible (+) y muy sensible (++)).
4. Se determinó el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Muña al 75% frente a ***S. mutans*** ATCC 25175, igual a  $15.7388 \pm 1.0456$  mm ( $p < 0.05$ ), es decir, muy sensible (++)  
y
5. Se determinó el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Muña para una concentración del 100% frente a ***S. mutans*** ATCC 25175, igual a  $18.3038 \pm 0.9258$  mm ( $p < 0.05$ ), es decir, entre muy sensible (++) y sumamente sensible (+++), en la escala de sensibilidad de Duraffourd y Lapraz.
6. Al comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña frente a la clorhexidina al 0.12% sobre el ***S. mutans*** ATCC 25175, se determinó un efecto antibacteriano creciente a partir de 50% de concentración por encima del efecto antibacteriano de la clorhexidina al 0.12% con un 11.96 mm; además se comprobó que existe diferencias significativas entre las

concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, solo en el caso de la concentración del 25% resultó ser nula, en consecuencia, no significativa el efecto antibacteriano.

## RECOMENDACIONES

1. Continuar la investigación sobre el efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña en distintas bacterias de la cavidad oral como el *Lactobacillus* y *Actinomyces*.
2. Ahora que se ha demostrado que el aceite esencial de muña tiene efecto antibacteriano se aconseja promoverlo, utilizarlo y desarrollarlo como complemento de dentífricos y colutorios.
3. Se recomienda seguir desarrollando investigaciones sobre plantas provenientes de la región de Tacna, las cuales son empleadas en la medicina alternativa, con el fin de encontrar componentes beneficiosos para el ámbito odontológico.
4. Realizar la investigación de los compuestos químicos de la sustancia aromática de la Muña de los diversos departamentos del Perú que contiene esta planta para evaluar sus componentes.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ministerio de Salud. "Guía de Práctica Clínica para la Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de la Caries Dental en Niñas y Niños" [internet].2017 [citada 8 de Julio 2019]. Disponible en: [https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/322902/Gu%C3%ADa\\_de\\_pr%C3%A1ctica\\_cl%C3%ADnica\\_para\\_la\\_prevenci%C3%B3n\\_diagn%C3%B3stico\\_y\\_tratamiento\\_de\\_la\\_caries\\_dental\\_en\\_ni%C3%B1as\\_y\\_ni%C3%B1os\\_Gu%C3%ADa\\_t%C3%A9cnica20190621-17253-1sj2h61.pdf?v=1561140245](https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/322902/Gu%C3%ADa_de_pr%C3%A1ctica_cl%C3%ADnica_para_la_prevenci%C3%B3n_diagn%C3%B3stico_y_tratamiento_de_la_caries_dental_en_ni%C3%B1as_y_ni%C3%B1os_Gu%C3%ADa_t%C3%A9cnica20190621-17253-1sj2h61.pdf?v=1561140245)
2. Organización Mundial de la Salud. [internet]. OMS, 2022. [citada 18 de noviembre 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/18-11-2022-who-highlights-oral-health-neglect-affecting-nearly-half-of-the-world-s-population>
3. Ministerio de Salud. "El 90.4% de los peruanos tiene caries dental" [internet].2019 [citada 8 de Julio 2019]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/45475-el-90-4-de-los-peruanos-tiene-caries-dental>
4. El Peruano. [internet], 2023. [citada 12 de abril 2023]. Disponible en: <https://www.elperuano.pe/noticia/209887-minsa-la-caries-dental-es-la-enfermedad-mas-comun-entre-la-poblacion-infantil>
5. Gomez A, Lopez Y. "Microbioma oral: variabilidad entre regiones y poblaciones". Rev. Fac. Med. [internet] 2022 [citada 20 de enero 2023].vol.65(5).Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0026-17422022000500008](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422022000500008)
6. Gamboa F. "Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del Streptococcus mutans: experiencias de investigación". Univ Odontol [Internet]. 2014 Jul [cited 2023 Apr 10];65–73. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2312/231242326009.pdf>
7. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales. [internet]. OPS.2019 [citada 19 de marzo 2019]. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/50479>
8. Paúcar E et al." Actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de *Mintostachys mollis* frente a microorganismos de la cavidad oral" Rev Cubana Invest Bioméd [Internet]. 2021, [citado 2024-01-17], vol.40, suppl.1. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002021000200009](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002021000200009)
9. Sanga R et al. "Concentración in vitro del aceite esencial de muña sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212". Instituto Universitario de Innovación Ciencia y Tecnología Inudi Perú. 2022.Disponible en: <https://editorial.inudi.edu.pe/index.php/editorialinudi/catalog/book/74>

10. Torrenegra M et al. "Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *minthostachys mollis*" Rev.Orinoquia [internet].2019.Disponible en :<https://orinoquia.unillanos.edu.co/index.php/orinoquia/article/view/329>
11. Campo M et al." Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *minthostachys mollis* griseb contra el *staphylococcus aureus*". Rev. Cubana de Farmacia. [internet] 2019.vol 51(4). Disponible en: <https://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/183>
12. Machado T, Reyes B. "Streptococcus mutans, principal cariogénico de la cavidad bucal" Rev. Progaleno [internet] 2021.vol.4(3).Disponible en: <https://revprogaleno.sld.cu/index.php/progaleno/article/view/233/214>
13. Barbara R. "Comparación in vitro del efecto antibacteriano de ápis mellífera y *minthostachys mollis* sobre cepas de *enterococcus faecalis* (atcc 29212) después de una preparación biomecánica endodóntica".Universidad Alas Peruanas. Perú, 2019. Disponible en: <https://repositorio.uap.edu.pe/handle/20.500.12990/9604>
14. Huari Grace. "Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en *Streptococcus Mutans*".Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú, 2014.Disponible en: [https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/3680/Huari\\_gg.pdf?sequence=1](https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/3680/Huari_gg.pdf?sequence=1)
15. Navarro Y." Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de muña (*minthostachys mollis*), comparado con la clorhexidina al 0.12% en cepas del *Streptococcus mutans*". Universidad Nacional del Altiplano. Perú, 2021.Disponible en: [http://tesis.unap.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14082/16692/Navarro\\_Macedo\\_Yamil\\_et.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://tesis.unap.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14082/16692/Navarro_Macedo_Yamil_et.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
16. Bonifacio R. "Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hoja de *minthostachys mollis* sobre *Streptococcus Mutans* ATCC 25175". Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Perú, 2019.Disponible en : [https://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13032/31973/EXTRACTOS\\_VEGETALES\\_BONIFACIO\\_URIOL\\_ROSITA\\_MORELIA.pdf?sequence=3&isAllowed=y](https://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13032/31973/EXTRACTOS_VEGETALES_BONIFACIO_URIOL_ROSITA_MORELIA.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
17. Copacandori E, Nuñez J. "Evaluación de los parámetros para la obtención de una bebida funcional, a partir de malta (*hordeum vulgare*) y muña (*minthostachys mollis*)" Universidad Nacional del Altiplano. Perú 2017. Disponible en: <https://repositorio.unsa.edu.pe/items/ee2e6aa2-ee54-4db9-9be5-f4eaa58df14c>
18. Silva R et al. "Secado de hojas de muña (*Minthostachys mollis*): modelado, cinética y propiedades termodinámicas". Universidad Tecnológica Equinoccial. 2022. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/5722/572271855008/html/>
19. Prom Perú [internet], 2023Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo. (2021). Súper Muña. Disponible en: <https://sites.peru.info/es-pe/superfoods/detalle/super-muna>

20. Cano C et al. "Actividad antifúngica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Mintostachys Mollis* (Muña)". *Rev. Rev. Perú. med. exp. salud pública*. [internet] 2008, vol.25(3). Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342008000300008](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342008000300008)
21. Carhuas R. "Efecto antimicrobiano del origanum vulgare, menta piperita, cymbopogon citratus sobre el streptococcus mutans, lactobacillus acidophilus en el hospital militar central lima 2017". Universidad de Huanuco. 2017. Disponible en: <http://repositorio.udh.edu.pe/handle/123456789/991;jsessionid=D7466F46AC485FEA277C06E6B080A1F2>
22. Calisaya S, Coaquira N. "Efecto inhibitorio del extracto de ajo (*Allium Sativum*) vs te verde (*Camelia Sinensis*) sobre *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas". Puno. 2018. Universidad Nacional del Altiplano. Disponible en: <https://revistas.ug.edu.ec/index.php/eoug/article/view/1628>
23. Figueroa M et al. "Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de caries dental". *Acta Odontol* [internet] 2009 [citada 20 de enero 2023]. vol.47(1). Disponible en: <http://saber.ucv.ve/bitstream/10872/4872/1/art%C3%ACculo%202.pdf>
24. Ojeda J et al. "Streptococcus mutans and dental caries". *Rev. CES odontol* [internet] 2013 vol.26(1). Disponible en: <https://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/2684/1859>
25. Kleinberg I. "A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to *Streptococcus mutans* and the specific-plaque hypothesis". *Critical Review in oral Biology and Medicine Off Publ.* [internet] vol.13(2). Disponible en: <https://doi.org/10.1177/154411130201300202>
26. Rojas F. "Algunas consideraciones sobre caries dental, fluoruros, su metabolismo y mecanismos de acción". *Acta Odontológica Venezolana*. [internet] vol.46(4). Disponible en: <https://www.actaodontologica.com/ediciones/2008/4/art-21/>
27. Estrada D. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. *Rev. Cub. Estomatología*. Vol 43. No 1. 2006. [En línea] Recuperado de <https://revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/2475/810>
28. Quintos D. "Efecto antibacteriano del aceite esencial del cymbopogon citratus "hierba luisa" sobre cepas de streptococcus mutans atcc 25175". Universidad Señor de Sipán. 2019. Disponible en: [https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/USSS\\_59454217351b854b461cf62114ef0422/Details](https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/USSS_59454217351b854b461cf62114ef0422/Details)
29. Kidd E, Fejerskoy O. *Essentials of Dental Caries*. Oxford University Press; 4, 2016. Available from: <https://global.oup.com/ukhe/product/essentials-of-dental-caries-9780198738268?cc=br&lang=en&>

30. Mendo Rubio M. Lecciones de Microbiología y Medios de Cultivo. 4th ed. Lima: Ediciones Laborales S.R.L.;1995.200 p
31. Durffourd C, Hervicourt LD, Lapraz JC. Cuadernos de fitoterapia clínica. 1st ed. Barcelona: Masson; 1987.

## **ANEXOS**

# ANEXO 1

The screenshot displays the G\*Power 3.1.9.2 software interface. The main window shows a graph of central and noncentral distributions with a critical F value of 6.59138. Below the graph, the 'Input Parameters' section is set to 'Determine =>' with an effect size f of 3.822975, alpha error probability of 0.05, power of 0.80, and 4 groups. The 'Output Parameters' section shows a noncentrality parameter lambda of 116.9211, a critical F of 6.5913821, numerator df of 3, denominator df of 4, total sample size of 8, and actual power of 0.9996172.

To the right, a secondary window titled 'Select procedure' is open, showing 'Effect size from means' as the selected procedure. It lists 4 groups with a standard deviation within each group of 1.249444. A table shows the mean and size for each group:

Group	Mean	Size
1	18.1787	8
2	15.945	8
3	16.4713	8
4	6	8

Below the table, the 'Equal n' option is selected with a value of 8, resulting in a total sample size of 32. The 'Calculate' button is highlighted, and the 'Effect size f' is set to 3.822975. Other buttons include 'Calculate and transfer to main window' and 'Close'.

## ANEXO 2: ANALISIS TAXONÓMICO

### Ubicación taxonómica de la especie

Reino : Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden : Lamiales

Familia : Lamiaceae

Subfamilia : Nepetoideae

Género : Minthostachys

Especie: Minthostachys mollis (Benth) Griseb

Nombre común : Muña

### Descripción botánica de la especie:

Es un arbusto aromático de 0,80-1 m de altura, frondoso en la parte superior, erecto y pubescente, Tallo cuadrado, ramificado desde la base.

Hojas simples, opuestas, ovoides, ligeramente aserradas, penninervias. Pecíolo de 4-6 mm de longitud. Limbo pubescente tanto en el haz como en el envés.

Inflorescencia: Flores pequeñas reunidas en verticilos falsos, ubicados en la parte superior de las ramas, con pedúnculos cortos.

Flores cigomorfas, hermafroditas. Cáliz gamosépalo, con 5 lóbulos dentados. Corola dividida en dos labios: dos pétalos constituyen el labio superior y tres conforman el labio inferior. Estambres didínamos. Ovario súpero bicarpelar.

*Dra Rosario Legarra vda de Chávez*

*Dra Rosario Legarra vda de Chávez*

### ANEXO 3: INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

**Instrumento de recolección de datos:** Medición del halo de inhibición

**Cuadro:** Aplicación de aceite esencial de muña 100 %, 75%, 50 % y 25 %.

BACTERIA: STREPTOCOCCUS MUTANS	ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (MINTHOSTACHYS MOLLIS)					GRUPO CONTROL	
	CONCENTRACION	25%	50%	75%	100%	+ Clorhexidina al 0.12%	-
1° Repetición	HALOS mm						
2° Repetición	HALOS mm						
3° Repetición	HALOS mm						
4° Repetición	HALOS mm						
5° Repetición	HALOS mm						
6° Repetición	HALOS mm						
7° Repetición	HALOS mm						
8° Repetición	HALOS mm						
<b>PROMEDIO FINAL</b>							

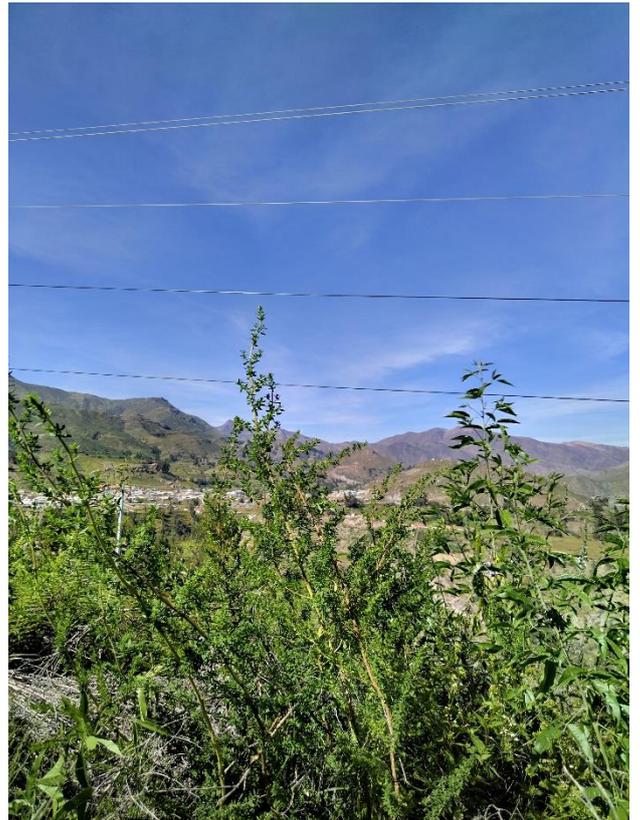
## ANEXO 4: INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

**Instrumento de recolección de datos:** Medición del halo de inhibición

**Cuadro:** Aplicación de aceite esencial de muña 100 %, 75%, 50 % y 25 %.

BACTERIA: STREPTOCOCCUS MUTANS	ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (MINTHOSTACHYS MOLLIS)					GRUPO CONTROL	
	CONCENTRACION	25%	50%	75%	100%	+ Clorhexidina al 0.12%	-
1° Repetición	HALOS mm	< 6mm	14.72	14.89	17.42	11.96	-
2° Repetición	HALOS mm	< 6mm	14.12	14.47	17.79		
3° Repetición	HALOS mm	< 6mm	13.30	14.70	19.47		
4° Repetición	HALOS mm	< 6mm	13.18	14.42	17.90		
5° Repetición	HALOS mm	< 6mm	14.55	17.60	18.87		
6° Repetición	HALOS mm	< 6mm	14.21	16.57	17.15		
7° Repetición	HALOS mm	< 6mm	14.16	16.80	17.57		
8° Repetición	HALOS mm	< 6mm	14.90	16.46	20.26		
<b>PROMEDIO FINAL</b>		<b>&lt; 6mm</b>	<b>14.14 mm</b>	<b>15.73 mm</b>	<b>18.30 mm</b>	<b>11.96 mm</b>	<b>-</b>

**ANEXO 5: FOTOGRAFÍAS DE LOS DIFERENTES PROCEDIMIENTOS  
DESARROLLADOS**



**FOTOGRAFÍA 1 - 2 MUÑA (*Minthostachys mollis*)**



**FOTOGRAFÍA 3 - 5 RECOLECCIÓN DE LA MUÑA (*MINTHOSTACHYS MOLLIS*)**



**FOTOGRAFÍA 6: MÉTODO DE DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR PARA MINTHOSTACHYS MOLLIS**



**FOTOGRAFÍA 7- 8: ACEITE ESENCIAL DE MUÑA MINTHOSTACHYS MOLLIS**



**FOTOGRAFÍA 9-10: DILUCIÓN DE LA MUÑA MINTHOSTACHYS MOLLIS A 100 %,75%,50% Y 25 %**



**FOTOGRAFÍA 11: FRASCOS ENVUELTO CON PAPEL ALUMINIO PARA SU CONSERVA HASTA SU UTILIZACION DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA MINTHOSTACHYS MOLLIS A 100 %,75%,50% Y 25 %**



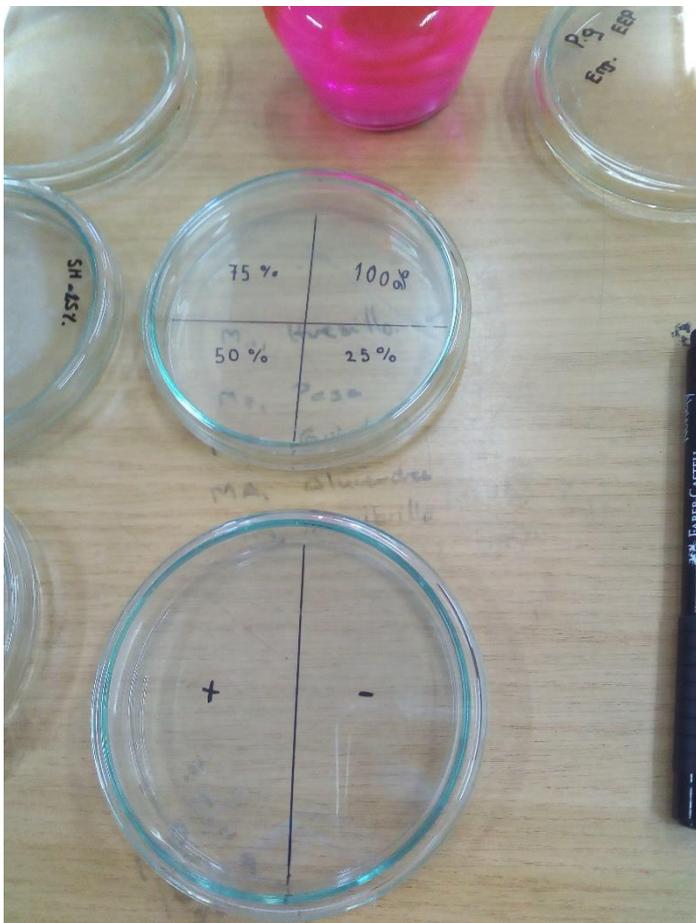
**FOTOGRAFÍA 12-15: ACTIVACIÓN DE LA CEPA STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175**



**FOTOGRAFÍA 16-18: ESTERILIZACIÓN DE LOS DISCOS DE SENSIBILIDAD EN AUTOCLAVE Y ESTUFA.**



FOTOGRAFÍA 19-20: PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO.



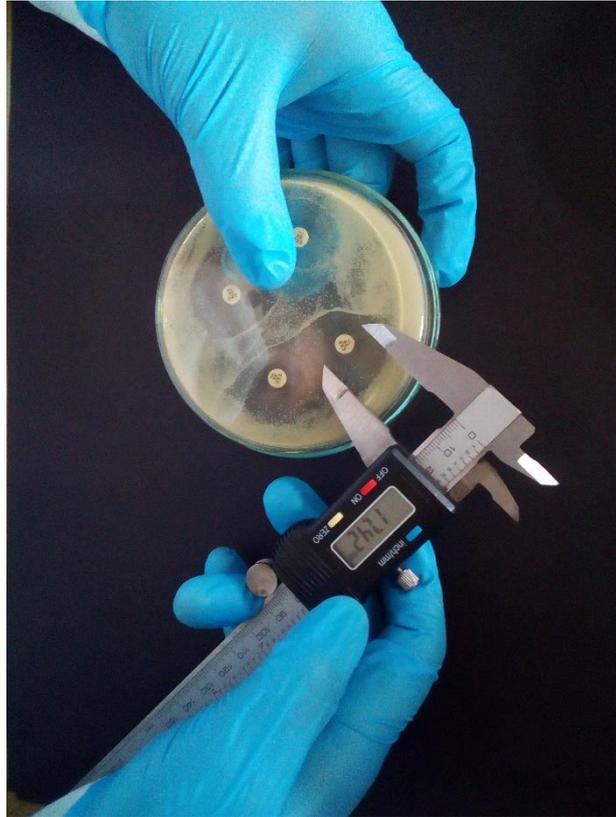




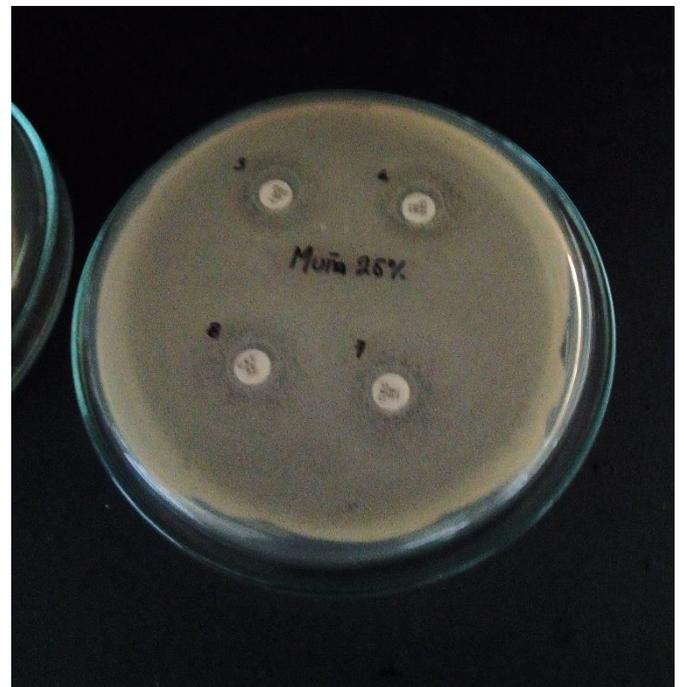
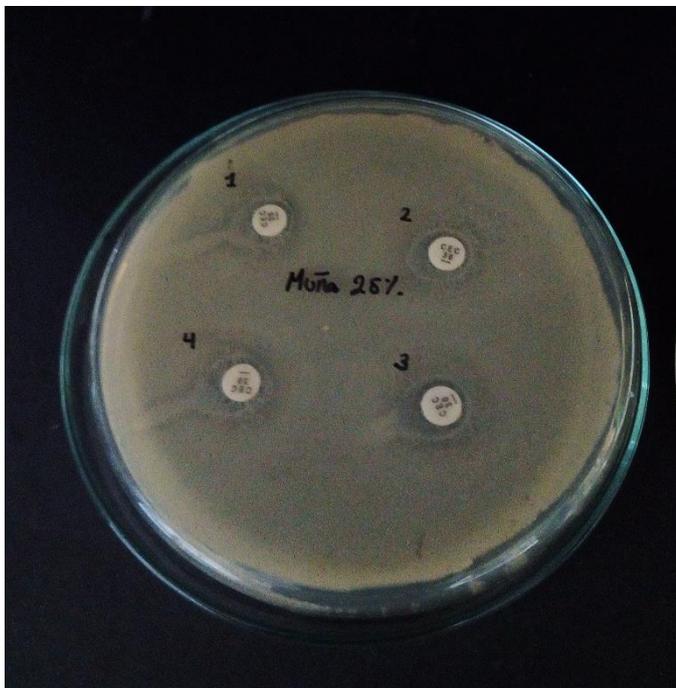


**FOTOGRAFÍAS 21-31: DISTRIBUCIÓN DE LOS DISCOS EMBEBIDOS CON ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*MINTHSTACHYS MOLLIS*) SOBRE PLACAS INOCULADAS CON *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175**

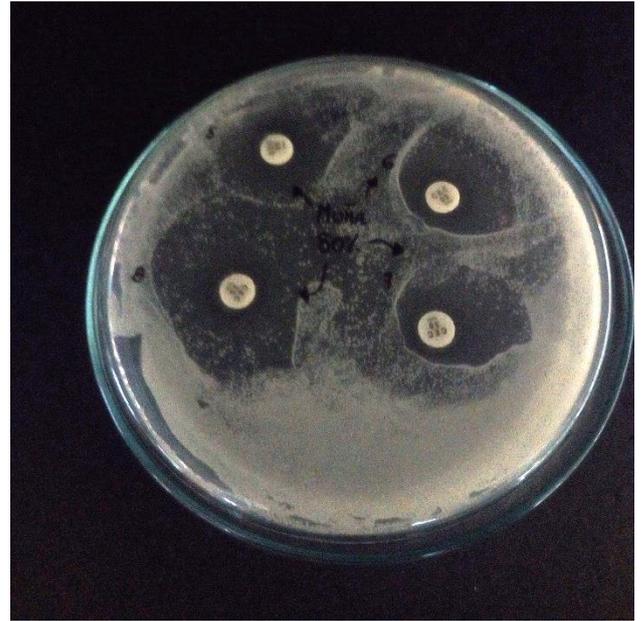
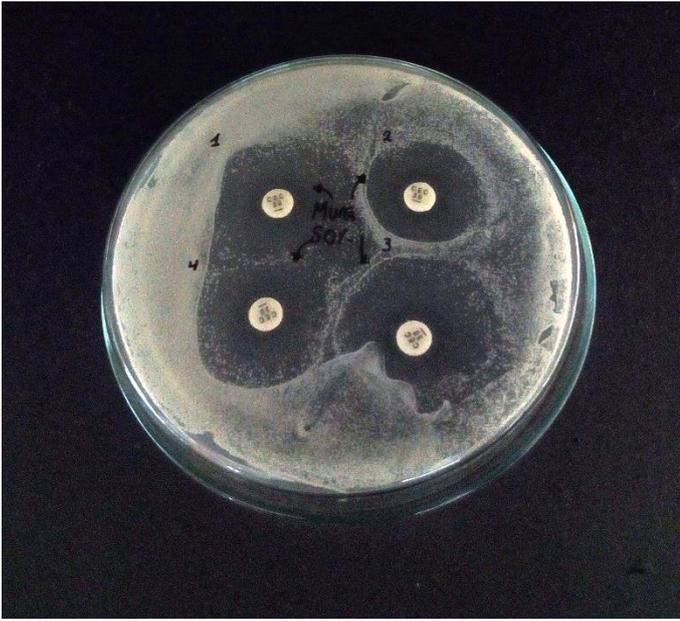




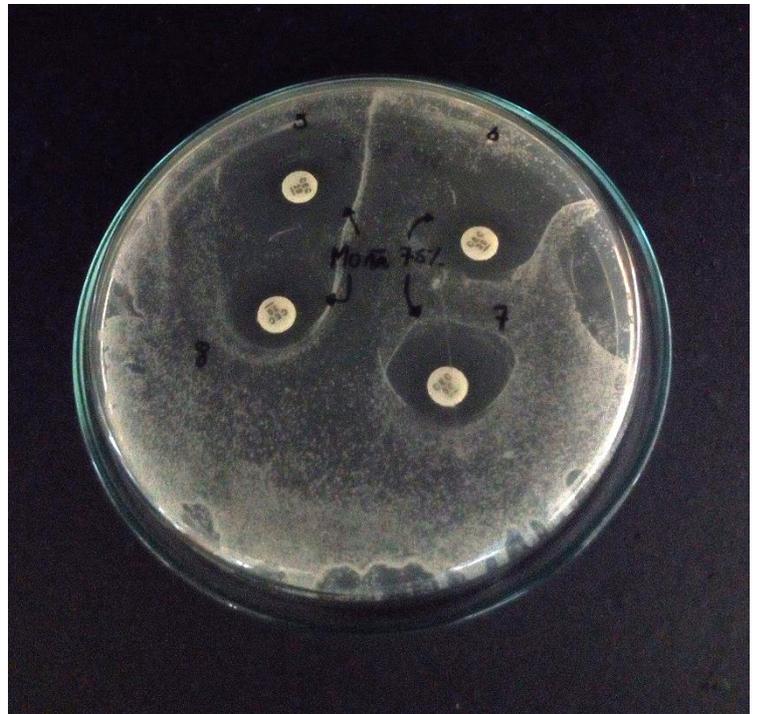
**FOTOGRAFÍA 32-33: MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN CON EL APOYO DEL VERNIER DIGITAL.**



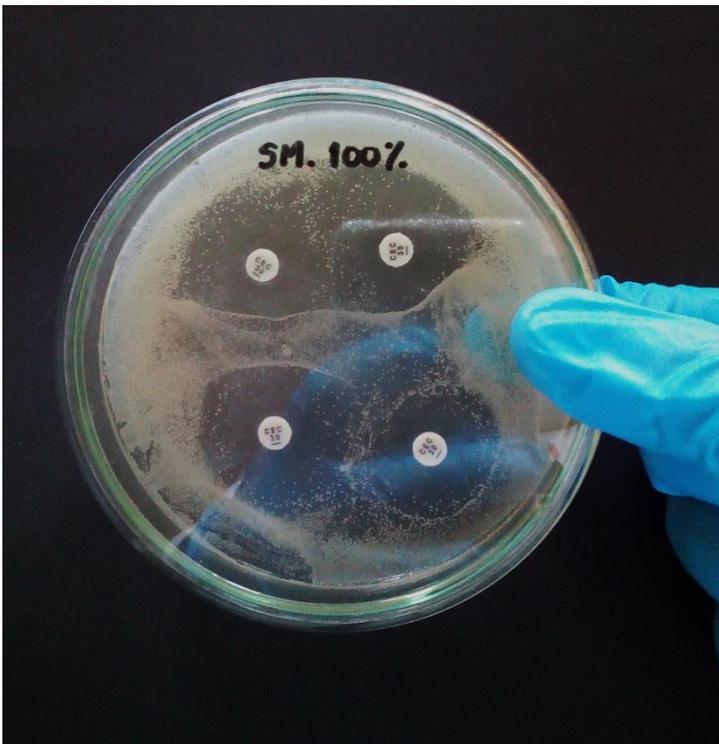
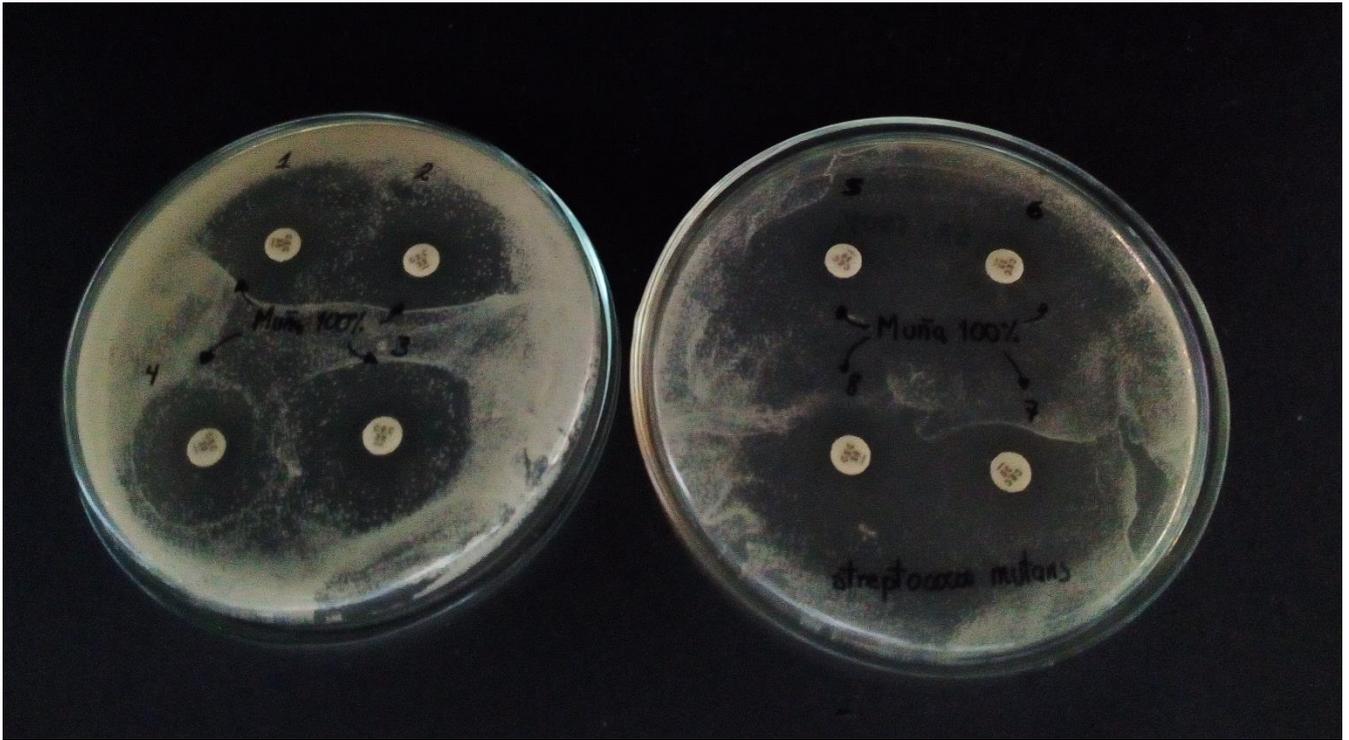
**FOTOGRAFÍAS 34-35: HALO DE INHIBICIÓN REPRESENTATIVO AL 25% CON ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (MINTHOSTACHYS MOLLIS) FRENTE A STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175.**

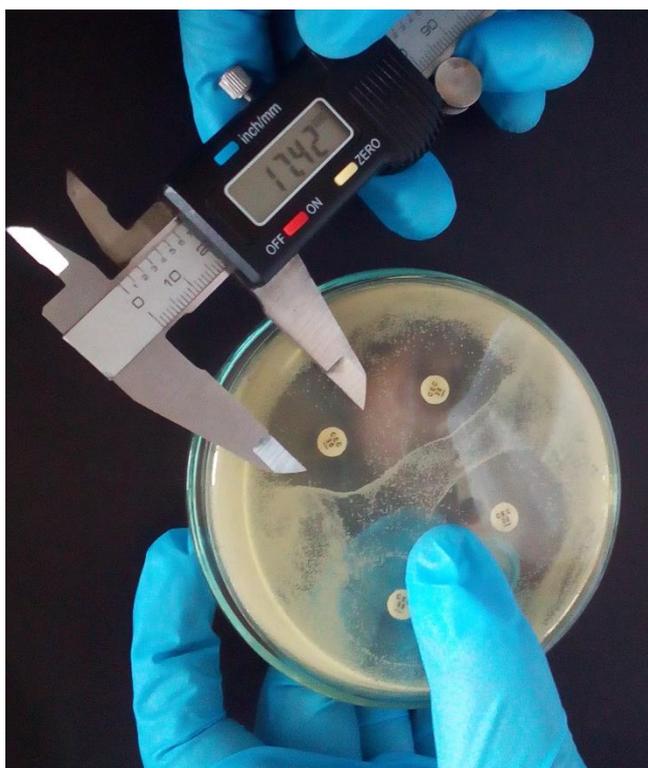


**FOTOGRAFÍAS 36-37: HALO DE INHIBICIÓN REPRESENTATIVO AL 50% CON ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*MINTHOSTACHYS MOLLIS*) FRENTE A *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175.**

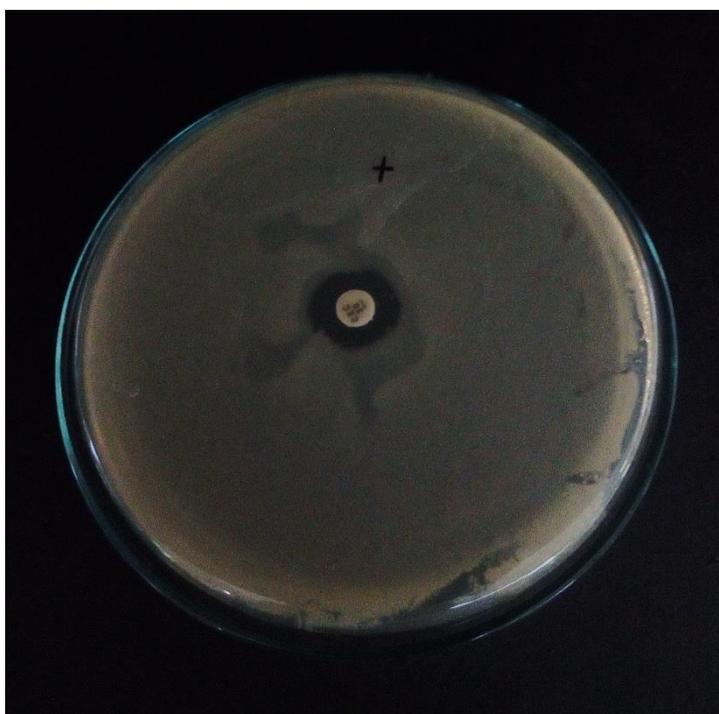


**FOTOGRAFÍAS 38-39: HALO DE INHIBICIÓN REPRESENTATIVO AL 75% CON ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*MINTHOSTACHYS MOLLIS*) FRENTE A *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175.**

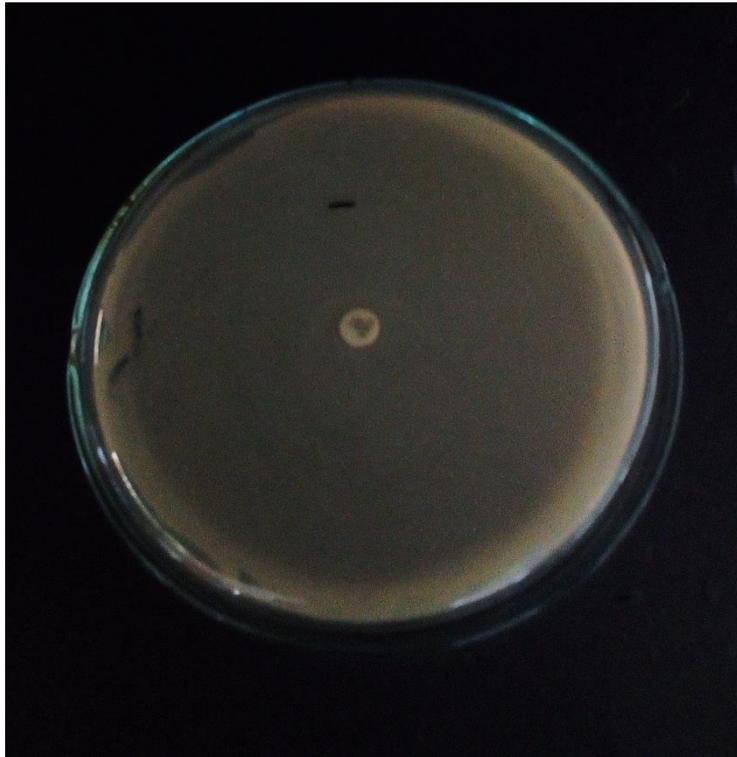




**FOTOGRAFÍAS 40-43: HALO DE INHIBICIÓN REPRESENTATIVO AL 100% CON ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*MINTHOSTACHYS MOLLIS*) FRENTE A *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175.**



**FOTOGRAFÍAS 44: HALO DE INHIBICIÓN FORMADO POR LA CLORHEXIDINA AL 0.12% FRENTE A *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175.**



**FOTOGRAFÍAS 45: CONTROL NEGATIVO**