



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *In vitro* DE LA MEZCLA  
DE ACEITES ESENCIALES DE *Cinnamomum Zeylanicum*  
*Blume* (CANELA) Y *Origanum vulgare L.* (ORÉGANO)  
FRENTE A *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO**

**AUTORES**

**Bach. VALDERRAMA DIAZ, DIANA VERONICA**

<https://orcid.org/0000-0003-0312-110X>

**Bach. BUSTAMANTE GORDILLO, DOLY ADELID**

<https://orcid.org/0000-0002-7781-2168>

**ASESOR**

**Mg. PALOMINO PACHECO, MIRIAM**

<https://orcid.org/0000-0002-0427-7766>

**LIMA – PERÚ**

**2022**

## **DEDICATORIA**

A Dios, por ser mi luz en mi camino  
y darme las fuerzas necesarias para salir adelante  
a pesar de los obstáculos que se presentan,  
enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad  
ni desfallecer en el intento.

A mis padres quienes a lo largo de mi vida  
han velado por mi bienestar y educación,  
brindándome su apoyo incondicional a cada momento  
para darme un futuro mejor  
y por ser mi principal motivación para el cumplimiento de mis metas.

A mis hermanos, por confiar en mí, brindándome su apoyo  
y consejos para lograr mis metas.

***Diana Veronica Valderrama Diaz***

A Dios, el creador de todas las cosas,  
Él es quien me dio la fortaleza y el entendimiento  
para continuar y seguir con paso firme  
logrando cada uno de mis objetivos.

A mis padres, por brindarme siempre su apoyo y comprensión  
a quienes les debo toda mi vida,  
han sabido formarme con buenos sentimientos,  
hábitos y valores, lo cual me han ayudado a salir adelante  
buscando siempre el mejor camino para así  
lograr mis metas trazadas.

A mi hermana y amigos, quienes han estado conmigo  
brindándome sus consejos e incentivándome  
a seguir para adelante a pesar de muchos  
obstáculos en el camino.

Gracias a todos.

## **AGRADECIMIENTO**

### **A DIOS**

A Dios, las infinitas gracias por bendecirnos  
con la salud y darnos las fuerzas necesarias  
para no caer a pesar de las dificultades que se presentan.

### **A NUESTROS PADRES**

Por ser un ejemplo, por brindarnos su apoyo  
incondicional y perseverancia para alcanzar nuestras  
metas con mucho orgullo y tener un futuro mejor.  
Nuestro eterno agradecimiento y retribución total por su gran amor.

### **A LA UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA (UMA)**

Por acogernos y brindarnos su apoyo,  
a nuestra asesora Mg. Miriam Palomino Pacheco  
que nos ayudó a culminar nuestro proyecto.  
Finalmente quiero expresar mi sincero agradecimiento  
al Dr. Miguel Inocente y a la profesora Marleny,  
principales colaboradores durante todo este proceso,  
quienes nos brindaron sus conocimientos, enseñanzas y colaboración  
durante el desarrollo de nuestro proyecto.

## ÍNDICE GENERAL

	<b>Páginas</b>
<b>RESUMEN</b>	08
<b>ABSTRACT</b>	09
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	10
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	17
2.1.	237
2.2.	¡Error! Marcador no definido.
2.3.	¡Error! Marcador no definido.8
2.4.	¡Error! Marcador no definido.2.5.
2.5.	¡Error! Marcador no definido.9
2.6.	¡Error! Marcador no definido.22
2.7.	¡Error! Marcador no definido.22
<b>III. RESULTADOS</b>	23
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	27
4.1.	¡Error! Marcador no definido.7
4.2.	¡Error! Marcador no definido.31
4.3.	¡Error! Marcador no definido.32
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	33
<b>ANEXOS</b>	38
ANEXO A: Instrumentos de recolección de datos	38
ANEXO B: Matriz de consistencia	39
ANEXO C: Operacionalización de las variables	41
ANEXO D: Certificado de análisis de la cepa ATCC	45
ANEXO E: Identificación taxonómica de <i>Origanum vulgare L.</i> (ORÉGANO)	47
ANEXO F: Certificado de calidad del aceite esencial de <i>Cinnamomun Zeylanicum Blume</i> (CANELA)	48

ANEXO G: Protocolo de conservación de los aceites esenciales	49
ANEXO H: Evidencias fotográficas del trabajo de campo	50

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Páginas</b>
Tabla 1. Estadística descriptiva de los datos recolectados para <i>Cinnamomun Zeylanicum Blume</i> (CANELA) Y <i>Origanum Vulgare L.</i> (ORÉGANO) frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	23
Tabla 2. Análisis de la varianza (ANOVA)	24
Tabla 3. Análisis por subgrupos homogéneos mediante la prueba de Tukey	25
Tabla 4. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd	26
Tabla 5. Prueba de distribución normal	43
Tabla 6. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)	44

## ÍNDICES DE FIGURAS

	<b>Páginas</b>
Figura 1. Diámetro promedio de los halos de inhibición por grupo de trabajo	42
Figura 2. Recolección de <i>Origanum vulgare</i> L. (Orégano)	50
Figura 3. Selección y separación de las hojas	52
Figura 4. Instalación del equipo de destilación por arrastre con vapor	51
Figura 5. Obtención del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. (Orégano)	52
Figura 6. Decantación del aceite esencial	53
Figura 7. Preparación de las concentraciones de los aceites esenciales	53
Figura 8. Activación de la cepa	54
Figura 9. Elaboración de pozos en agar	54
Figura 10. Aplicación de los aceites en el medio de cultivo	55
Figura 11. Medición del halo de inhibición	55

## RESUMEN

**Objetivo:** Demostrar la actividad antibacteriana de la mezcla de aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Blume* (canela) y *Origanum vulgare L.* (orégano) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175

**Material y Método:** El estudio presentó enfoque cuantitativo, con diseño experimental y tipo prospectivo y transversal, la población de estudio estuvo conformada por las especies vegetales de *Cinnamomun Zeylanicum Blume* (canela) y *Origanum Vulgare L.* (orégano), la muestra empleada fue el aceite esencial de ambas especies, el aceite de orégano fue obtenido mediante la técnica de arrastre con vapor y mediante el método de difusión en pozo se determinó la actividad antibacteriana.

**Resultados:** Los resultados mostraron halos de inhibición promedio con respecto al aceite de canela al 50%, 75% y 100% fue de  $31,10 \pm 0,31$ mm,  $38,23 \pm 0,36$ mm y  $42,95 \pm 0,31$ mm respectivamente; el aceite de orégano al 50%, 75% y 100% fue de  $25,99 \pm 0,44$ mm,  $32,64 \pm 0,30$ mm y  $36,86 \pm 0,36$ mm respectivamente; la mezcla de los aceites de canela y orégano al 50%, 75% y 100% fue de  $29,35 \pm 0,50$ mm,  $34,84 \pm 0,41$ mm y  $40,11 \pm 0,51$ mm respectivamente y el control negativo obtuvo halos de inhibición de  $6,17 \pm 0,41$ mm.

**Conclusiones:** La mezcla de aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Blume* (canela) y *Origanum vulgare L.* (orégano) presentó actividad antibacteriana

**Palabras clave:** *Cinnamomum zeylanicum*, *Origanum vulgare*, *Streptococcus mutans*, aceite esencial, antibacteriano.

## ABSTRACT

**Objective:** To demonstrate the antibacterial activity of the essential oil mixture of *Cinnamomum zeylanicum* Blume (cinnamon) and *Origanum vulgare* L. (oregano) against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Material and method:** The study presented a quantitative approach, with an experimental design and prospective and cross-sectional type, the study population was made up of the plant species of *Cinnamomun Zeylanicum Blume* (cinnamon) and *Origanum Vulgare L.* (oregano), the sample used was the essential oil from both species, the oregano oil was obtained by the steam drag technique and the antibacterial activity was determined by the well diffusion method.

**Results:** The results showed average inhibition halos with respect to cinnamon oil at 50%, 75% and 100% was  $31.10 \pm 0.31$ mm,  $38.23 \pm 0.36$ mm and  $42.95 \pm 0.31$ mm respectively. ; oregano oil at 50%, 75% and 100% was  $25.99 \pm 0.44$ mm,  $32.64 \pm 0.30$ mm and  $36.86 \pm 0.36$ mm, respectively; the mixture of cinnamon and oregano oils at 50%, 75% and 100% was  $29.35 \pm 0.50$ mm,  $34.84 \pm 0.41$ mm and  $40.11 \pm 0.51$ mm respectively and the negative control obtained halos inhibition of  $6.17 \pm 0.41$ mm.

**Conclusions:** The essential oil mixture of *Cinnamomum zeylanicum* Blume (cinnamon) and *Origanum vulgare* L. (oregano) showed antibacterial activity

**Keywords:** *Cinnamomum zeylanicum*, *Origanum vulgare*, *Streptococcus mutans*, essential oil, antibacterial

## I. INTRODUCCIÓN

*Streptococcus mutans* es una bacteria anaerobia Gram positiva residente en la cavidad bucal y vías respiratorias altas; así mismo, se comporta como patógeno oportunista en la caries dental y endocarditis infecciosa, presenta mecanismos patogénicos como el poder acidogénico, acidófilo y acidúrico, además de su adhesión a las proteínas salivales, hace que su capacidad infectiva sea un problema de salud a nivel mundial con altos índices de morbilidad <sup>1,2</sup>.

La caries dental es una de las enfermedades más comunes causadas por *Streptococcus mutans* a nivel mundial; sin embargo, también existe una alta incidencia de casos de endocarditis presentando de 15 a 30 casos por cada millón de habitantes al año, aunque esta tasa ha disminuido en los últimos años, pero aún presenta graves problemas de salud pública a nivel mundial <sup>3,4</sup>.

El Centro para la Prevención y Control de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC) indicó que las bacterias que presentan resistencia producen 2'000,000 de infecciones y 23,000 muertes en los Estados Unidos de América, probablemente esta cifra sea igual a la realidad en los países de América Latina. En el Perú se muestra una realidad similar a todo el mundo por ello es de vital importancia tomar en consideración las medidas útiles de prevención y promoción a dicho problema relacionado a la salud bucodental. El Ministerio de Salud (MINSA) informó que el 90.4 % de peruanos tienen caries dentaria y un 85 % padece de enfermedades periodontales, donde indican que los malos hábitos de higiene bucal son una de las causas principales de salud pública <sup>5,6</sup>.

El presente proyecto de investigación tomando en consideración la problemática y las potenciales propiedades que pueden presentar estas dos especies, se plantea la siguiente pregunta general:

- ¿Presentará actividad antibacteriana la mezcla de aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) y *Origanum vulgare* L. (orégano) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175?, del mismo modo se plantearon las siguientes preguntas secundarias,

#### Preguntas específicas

- ¿Cuál será la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) al 100% ,75% y 50% frente a *Streptococcus mutans*?,
- ¿Cuál será la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) al 100%, 75% y 50% frente a *Streptococcus mutans*?,
- ¿Cuál de los aceites esenciales de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) y *Origanum vulgare* L. (orégano) presentará mayor actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*? y
- ¿Presentará actividad antibacteriana sinérgica los aceites esenciales de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) y *Origanum vulgare* L. (orégano) frente a *Streptococcus mutans*?

*Cinnamomum zeylanicum* es un árbol que alcanza casi los 9 m de alto, crece en zonas tropicales. Está comprobado científicamente que algunos de sus compuestos presentan determinadas acciones como el cinamaldehído componente principal del aceite esencial, responsable del olor y sabor de la corteza de la canela es hipotensor, espasmolítico y antiinflamatorio, el aceite y extractos de la corteza presenta actividad antimicrobiana y el aceite de las hojas es anestésico y antiséptico, otros compuestos importantes tenemos al eugenol, ácido cinámico y cinamato <sup>7</sup>.

Con respecto a *Origanum vulgare* es una planta herbácea, perenne, sus tallos son rectos, miden 90 cm o más, presenta ramificaciones. Sus hojas son ovaladas, enteras o ligeramente serradas. Destacada por sus propiedades farmacológicas como antimicrobiano, antiviral, antioxidante, antiinflamatorio, antiespasmódico, neuroprotector, etc. Su aceite esencial está compuesto principalmente de fenoles (timol y carvacrol), p-cimeno y  $\gamma$ -terpinene, acetato de linalilo,  $\beta$ -cariofileno. Linalol, trans-cariofileno y el sabineno. Siendo el carvacrol el componente principal <sup>8</sup>.

Entre los antecedentes internacionales:

Husain I., et al (2018), quienes determinaron la actividad apoptótica y antibacteriana del extracto etanólico de *Cinnamomum zeylanicum* (canela). Los resultados encontrados mostraron que *Cinnamomum zeylanicum* (canela) no presenta actividad antibacteriana significativa contra *Escherichia coli*; sin embargo, si la presenta contra *Staphylococcus aureus* a concentraciones de 10 mg/mL <sup>9</sup>.

Por su parte, Wang Y., et al (2018), determinaron su efecto antibacteriano del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) y cinamaldehído contra *Porphyromonas gingivalis*. En los resultados las concentraciones mínimas de inhibición de *C. zeylanicum* y cinamaldehído fueron de 6.25 µg/ml y 2.5 µM para *P. gingivalis*, respectivamente <sup>10</sup>.

Ortega A., (2018), determinó el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* (orégano) y *Thymus vulgaris* (tomillo) contra la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* ATCC 2600 a concentraciones del 10%, 25%, 50%, 75% y 100%. Los halos de inhibición obtenidos en los resultados fueron de 32.5 mm para el orégano y 33 mm para el tomillo, ambos a las concentraciones del 100%; para el aceite de *Origanum vulgare* (orégano) la CMI fue de 0.12% y para el aceite de *T. vulgaris* fue de 0.25% <sup>11</sup>.

Entre los antecedentes nacionales:

Layme M., (2019), quien determinó el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* B. y *Origanum vulgare* L. frente a *E. faecalis* y *Candida albicans*; mostrando su actividad antibacteriana a partir de las concentraciones, 14,06 mg/ml para ambas bacterias, 15,17 mg/ml en *Origanum vulgare* L. y 16,61 mg/ml muy sensibles en la mezcla de los aceites; con respecto al efecto antimicótico contra *Candida albicans* fue muy sensible a 19,98 mg/ml para *Cinnamomum zeylanicum* B. y en 26,71 mg/ml para *Origanum vulgare* L., este hongo resulta ser muy sensible a la unión de ambos aceites en 17,44 mg/ml <sup>12</sup>.

Ruiz F., (2019), evaluó el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* contra *Salmonella typhi*, a concentraciones de 5%, 25%, 50%, 75% y 100%. En los resultados se halló que *Salmonella typhi* es altamente sensible al aceite esencial de *Origanum vulgare* al 75% y 100%; muy sensible al 25% y 50% y sensible al 5%, siendo las concentraciones del 75% y 100% significativamente mayor al ciprofloxacino contra esta bacteria <sup>13</sup>.

Luis A.,(2017), determinó la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) comparado con clorhexidina al 0,12% frente a *Streptococcus mutans*. Como resultado mostró estabilidad y eficacia antibacteriana *in vitro* del aceite sobre *S. mutans* a las 72 horas y 120 horas, no obstante, la clorhexidina presentó mayor actividad que el aceite a las 120 horas <sup>14</sup>.

La importancia de este estudio se basa en aportar información sobre la eficacia bacteriana de dos plantas medicinales, en asociación y su efecto comparado lo que brindará un nuevo conocimiento a futuros trabajos de investigación que se respalden en este estudio. Por otro lado, este estudio servirá como base para la comunidad científica para seguir realizando estudios acerca de estas especies vegetales, con el fin de demostrar más efectos terapéuticos.

La justificación del presente estudio, se fundamenta en la problemática que se presenta sobre la resistencia bacteriana a nivel local y mundial, así mismo, sobre el tipo de enfermedad que produce *Streptococcus mutans*, en tal sentido, es necesario investigaciones que ayuden a mejorar los tratamientos y combatir la resistencia bacteriana que ocasiona altos costos por tratamiento en la población, los beneficios del estudio permitirán reducir estos costos, brindar una mejor calidad de vida a las personas, disminuir días de hospitalización y sobre todo reducir los índices de resistencia bacteriana de esta bacteria.

Por lo tanto, el presente estudio tiene como objetivo general, demostrar la actividad antibacteriana de la mezcla de aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Blume* (canela) y *Origanum vulgare L.* (orégano) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, a partir de este se han formulado los siguientes objetivos específicos.

- Determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum B* (canela) al 100%, 75% y 50% frente a *Streptococcus mutans*.
- Identificar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Origanum vulgare L.* (orégano) al 100%, 75% y 50% frente a *Streptococcus mutans*.
- Comparar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Blume* (canela) y *Origanum vulgare L.* (orégano) frente a *Streptococcus mutans*.
- Examinar la actividad antibacteriana sinérgica de aceites esenciales de *Cinnamomum zeylanicum Blume* (canela) y *Origanum vulgare L.* (orégano) frente a *Streptococcus mutans*.

Como hipótesis general, la mezcla de los aceites esenciales de *Cinnamomum zeylanicum Blume* (canela) y *Origanum vulgare L.* (orégano) presentan actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans ATCC 25175*, en cuanto a las hipótesis específicas planteadas tenemos:

- El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Blume* (canela) al 100%, 75% y 50% presenta actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*.
- El aceite esencial de *Origanum vulgare L.* (orégano) al 100%, 75% y 50% presenta actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*.
- El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum Blume* (canela) posee mejor actividad antibacteriana que el aceite esencial de *Origanum vulgare L.* (orégano) frente a *Streptococcus mutans*.
- Existe efecto sinérgico antibacteriano entre los aceites esenciales de *Cinnamomum zeylanicum Blume* (canela) y *Origanum vulgare L.* (orégano) frente a *Streptococcus mutans*.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Enfoque y diseño de la investigación

**Enfoque cuantitativo:** Se emplearon los datos recolectados en el estudio para realizar un procesamiento estadístico que demuestre la hipótesis del estudio con confianza <sup>15</sup>.

**Diseño experimental:** En el estudio se manipuló o alteró las variables de estudio de sus condiciones normales para demostrar la hipótesis del estudio <sup>16</sup>.

**Tipo de investigación: Transversal y Prospectivo.**

**Es transversal:** Dado que la recolección de los datos se llevó a cabo en un solo periodo de tiempo <sup>17</sup>.

**Es prospectivo:** Debido a que los datos de las experimentaciones realizadas fueron recolectados como vayan sucediendo <sup>17</sup>.

### 2.2. Población, muestra y muestreo

#### Población

La población de estudio está conformada por la especie vegetal de *Cinnamomum zeylanicum* B. (canela) obtenida por servicio de la capital de Lima (Ver Anexo F - G). Y *Origanum vulgare* L. (orégano) fue recolectado en el distrito de Monsefú, ubicado a 15 km de la provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque.

La cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175, fue proporcionada por el laboratorio Microclin de la ciudad de Trujillo.

## **Muestra**

La muestra de estudio está conformada por 4 kilogramos de hoja de *Origanum vulgare* L. (orégano) y 10 ml de aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* B. (canela).

Y como muestra microbiológica tenemos a Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a escala de Mc Farland 0.5.

## **Muestreo**

El tipo de muestreo fue no probabilístico por conveniencia, debido a no ser un muestreo aleatorizado, se obtuvo las muestras de un lugar determinado en atención a la facilidad y disponibilidad de acceso del investigador para su recolección <sup>18</sup>.

## **2.3. Variables de investigación**

**Variable independiente:** Aceites esenciales de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) y *Origanum vulgare* L. (orégano).

Definición conceptual: Se refiere a la solución oleosa de naturaleza aromática que contienen metabolitos activos al 50%, 75% y 100% del aceite de canela y orégano <sup>19</sup>.

Definición operacional: Elaborado mediante el método de destilación con arrastre de vapor <sup>19</sup>.

**Variable dependiente:** Actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*.

Definición conceptual: Se refiere al poder de inhibir o reducir el crecimiento de la bacteria <sup>20</sup>.

Definición operacional: Por medio de las pruebas de ANOVA Y TUKEY para la contrastación de la hipótesis de estudio se compararán los diámetros de los halos de inhibición <sup>20</sup>.

## 2.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

Destilación de arrastre por vapor: Técnica que emplea el vapor de agua, el cual se extrae de la muestra vegetal de los aceites esenciales para luego ser sometido a condensación y separación posterior <sup>21</sup>.

Difusión en pozo: Método estandarizado para determinar la sensibilidad o actividad antibacteriana de una sustancia sometiéndola a cultivos de bacterias sobre un pozo en agar <sup>20</sup>.

Vernier digital: Instrumento de medida de alta precisión empleado para obtener datos de longitudes pequeñas.

## 2.5. Plan metodológico para la recolección de datos

- **Autorización y coordinaciones previas**

La clasificación taxonómica de la especie vegetal en estudio fue realizada por un especialista botánico de la ciudad de Lima, emitiendo una constancia de identificación taxonómica y los procedimientos microbiológicos se realizaron en las instalaciones del Laboratorio Microclin LTDA, el mismo que proporcionó las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

- **Recolección de la muestra**

Los investigadores se trasladaron al lugar de recolección de la muestra *Origanum vulgare L.* (orégano), previa coordinación con el propietario del área de cultivo ubicado en el distrito de Monsefú, Chiclayo-Lambayeque Latitud: -6.87861, Longitud: -79.8167, altitud 13 msnm. Luego se procedió a la recolección de la muestra vegetal, en las primeras horas de la mañana en cantidad suficiente obteniendo 4 kilogramos de hojas aproximadamente. Asimismo, se tomó una muestra representativa de

cada especie para que el profesional botánico pueda identificar y describir taxonómicamente a las especies vegetales.

Las muestras recolectadas se colocaron sobre papel Kraft y se trasladaron al laboratorio para el inicio de su procesamiento.

- **Acondicionamiento y preparación de la muestra** <sup>22</sup>

De las muestras vegetales obtenidas se seleccionaron aquellas que presentaron las mejores características de conservación, fresca según criterios de inclusión y exclusión.

- **Obtención del aceite esencial** <sup>23</sup>

Las hojas de *origanum vulgare L.* (ORÉGANO) fueron colocadas sobre el soporte del equipo de arrastre por vapor en una cantidad de 500 gr, luego se procedió a armar el equipo asegurando las líneas de agua para el refrigerante, colocando 10 litros de agua en el equipo y sellando para mantener hermético el equipo, el procedimiento se realizó cada 4 horas donde se cambió por nueva muestra hasta agotar la muestra.

El aceite esencial de las hojas de *Cinnamomun zeylanicum B.* (CANELA) se obtuvo de forma comercial de la empresa Essential Oils Perú (EOP), evidenciando el método de destilación por arrastre de vapor (ver anexo F).

- **Obtención y reactivación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175:** <sup>21</sup>

La cepa de estudio (*Streptococcus mutans* ATCC 25175) fue proporcionada por el Laboratorio microbiológico Microclin S.A. de la ciudad de Trujillo el cual nos brindó las facilidades para la elaboración de los análisis.

Para la reactivación de la cepa de estudio se mezcló la ampolla que contiene el microorganismo liofilizado y se mezcló con este contenido, luego de esto se combinó por 5 minutos y se realizó un sembrado en estrías en el medio de cultivo Agar Sangre de Cordero, luego se llevó a incubación en medio anaeróbico (jarra de anaerobiosis) por 24 horas a 37°C, al no encontrar crecimiento en este periodo de tiempo se llevó nuevamente a incubación por 24 horas más.

- **Sembrado en placa de cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175:**

21,24

Una vez obtenidas las colonias del microorganismo, se tomaron de estas dos asadas con un hisopo estéril y se diluyó hasta obtener 0.5 en la escala de Mc. Farland comparado con el estándar de Mc Farland mediante diluciones sucesivas con agua destilada. De este último, se realizó sembrados en superficie en agar Müller Hinton con un hisopo estéril en placas Petri.

- **Evaluación del efecto antibacteriano** <sup>25</sup>

Se realizaron pozos de un diámetro de 6 mm en las placas sembradas y luego se aplicaron 30 uL de las distintas concentraciones en los pozos realizados empleando una placa para las concentraciones experimentales según tamaño del halo producido.

Las muestras se incubaron en anaerobiosis por 24 horas a 37°C. Luego de esto se procedió a tomar las medidas directas de los halos de inhibición formados con un vernier digital.

## **2.6. Procesamiento del análisis estadístico**

Los datos recolectados del tamaño del halo de inhibición formado, fueron procesados mediante estadística descriptiva y posteriormente pruebas inferenciales para la contrastación de la hipótesis de estudio, como ANOVA y Tukey mediante el programa estadístico SPSS versión 26, con un nivel de confianza del 95%.

## **2.7. Aspectos éticos**

Debido a ser un estudio experimental *in vitro*, no requirió evaluación del Comité de Ética; sin embargo, por manejar microorganismos con capacidad infectiva se cumplió las Buenas Prácticas de Laboratorio y la disposición de los desechos considerados Biocontaminados <sup>26,27</sup>.

### III. RESULTADOS

**Tabla 1. Estadística descriptiva de los datos recolectados para *Cinnamomun Zeylanicum Blume* (CANELA) Y *Origanum Vulgare L.* (ORÉGANO) FRENTE A *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

	N	Diámetro del halo de inhibición (mm)						
		Medi a	Desv. Estánda r	Error Estánda r	95% Intervalo de confianza para la Media		Mínim o	Máxim o
					Límite inferior	Límite superior		
Aceite de canela - 50%	1 5	31,10	0,31	0,08	30,93	31,28	30,56	31,59
Aceite de canela - 75%	1 5	38,23	0,36	0,09	38,03	38,43	37,69	39,20
Aceite de canela - 100%	1 5	42,95	0,31	0,08	42,78	43,12	42,32	43,37
Aceite de orégano - 50%	1 5	25,99	0,44	0,11	25,74	26,23	25,19	26,72
Aceite de orégano - 75%	1 5	32,64	0,30	0,08	32,48	32,81	32,22	33,20
Aceite de orégano - 100%	1 5	36,86	0,36	0,09	36,66	37,06	36,18	37,45
Aceite de canela + orégano - 50%	1 5	29,35	0,50	0,13	29,07	29,62	28,52	30,27
Aceite de canela + orégano - 75%	1 5	34,84	0,41	0,11	34,61	35,07	34,19	35,39
Aceite de canela + orégano - 100%	1 5	40,11	0,51	0,13	39,83	40,40	39,19	41,60
Control negativo	1 5	6,17	0,41	0,03	6,11	6,23	6,05	6,40

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 1 se puede apreciar el análisis realizado a todos los grupos de datos con respecto al tamaño del halo de inhibición obtenidos sobre cultivos en placa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se evaluó la media, desviación estándar, los

límites de confianza y valores máximo y mínimo encontrados los halos de inhibición promedio con respecto al aceite de canela al 50%, 75% y 100% fue de  $31,10 \pm 0,31$  mm,  $38,23 \pm 0,36$  mm y  $42,95 \pm 0,31$  mm respectivamente; el aceite de orégano al 50%, 75% y 100% fue de  $25,99 \pm 0,44$ mm,  $32,64 \pm 0,30$ mm y  $36,86 \pm 0,36$ mm respectivamente; la mezcla de los aceites de canela y orégano al 50%, 75% y 100% fue de  $29,35 \pm 0,50$ mm,  $34,84 \pm 0,41$ mm y  $40,11 \pm 0,51$ mm respectivamente y el control negativo obtuvo halos de inhibición de  $6,17 \pm 0,41$ mm

**Tabla 2. Análisis de la varianza (ANOVA)**

	Diámetro del halo de inhibición				
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	14514,587	9	1612,732	11311,732	0,000
Dentro de grupos	19,960	140	0,143		
Total	14534,547	149			

**Fuente: SPSS ver. 26**

La tabla 2 muestra la prueba de ANOVA o análisis de la varianza aplicado a los grupos de los datos mediante el programa SPSS versión 26, luego del análisis se observa un p-valor obtenido menor al nivel de significancia del estudio; por lo tanto, la prueba nos confirma que existe diferencia estadísticamente significativa en al menos uno de los grupos de datos analizados.

**Tabla 3. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey**

HSD Tukey<sup>a</sup>

Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Control negativo	15	6,17									
Aceite de orégano - 50%	15		25,99								
Aceite de canela + orégano - 50%	15			29,35							
Aceite de canela - 50%	15				31,10						
Aceite de orégano - 75%	15					32,64					
Aceite de canela + orégano - 75%	15						34,84				
Aceite de orégano - 100%	15							36,86			
Aceite de canela - 75%	15								38,23		
Aceite de canela + orégano - 100%	15									40,11	
Aceite de canela - 100%	15										42,95

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 15,000.

**Fuente: SPSS ver. 26**

La tabla 3, muestra un análisis complementario a la prueba de ANOVA el cual se realizó mediante la prueba de Tukey por sub grupos homogéneos, que nos permite determinar y comparar los grupos de datos, en este análisis se determinó diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos de los datos analizados, demostrando que todos los tratamientos presentan efectos diferentes.

**Tabla 4. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd**

Tratamiento	Sensibilidad nula ≤ 8 mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 14-20 mm	Altamente sensible > 20 mm
Control negativo	6,17			
Aceite de orégano - 50%				25,99
Aceite de canela + orégano - 50%				29,35
Aceite de canela - 50%				31,10
Aceite de orégano - 75%				32,64
Aceite de canela + orégano - 75%				34,84
Aceite de orégano - 100%				36,86
Aceite de canela - 75%				38,23
Aceite de canela + orégano - 100%				40,11
Aceite de canela - 100%				42,95

En la tabla 4, se representan los halos promedios obtenidos por los grupos de tratamiento y control y se comparan mediante la escala de Duraffourd, se puede apreciar que *Streptococcus mutans* ATCC 25175 presenta Sensibilidad Nula al grupo control negativo y es altamente sensible a todos los aceites de *Cinnamomun zeylanicum* Blume (canela) Y *Origanum Vulgare* L. (orégano) a las concentraciones del 50%, 75%, 100% y la mezcla de estos.

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1. Discusión de Resultados

La presente investigación evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* de dos tipos de aceites esenciales, el aceite esencial comercial, de *Zeylanicum Blume* (canela) obtenido como muestra comercial marca EOP de la empresa Essential Oils Perú SAC y el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) obtenido por medio de la técnica de destilación por arrastre de vapor; así mismo, se evaluó la mezcla de ambos aceites esenciales frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Los resultados obtenidos en el estudio se detallan a continuación.

En la tabla 1 los valores obtenidos por los aceites esenciales sobre cultivos en placa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, mostraron halos de inhibición promedio con respecto al aceite de *C. Zeylanicum B.* (canela) al 50%  $31,10 \pm 0,31\text{mm}$ ; al 75 %  $38,23 \pm 0,36\text{mm}$  y al 100%  $42,95 \pm 0,31\text{mm}$  respectivamente ; sin embargo con el aceite de *Origanum vulgare L.* (orégano) se obtuvieron  $25,99 \pm 0,44\text{mm}$  al 50%;  $32,64 \pm 0,30\text{mm}$  al 75% y al 100% fue de  $36,86 \pm 0,36\text{mm}$  respectivamente; en la mezcla de los aceites de *Zeylanicum Blume* (canela) y *Origanum vulgare L.* (orégano) obtuvieron halos de  $29,35 \pm 0,50\text{mm}$  al 50%;  $34,84 \pm 0,41\text{mm}$  al 75% y al 100%  $40,51 \pm 0,31\text{mm}$  respectivamente y el control negativo obtuvo halos de inhibición de  $6,17 \pm 0,41\text{mm}$ .

Los datos recolectados se sometieron al análisis de distribución normal mediante las pruebas de Kolmogorov Smirnov y Shapiro Wilk, obteniendo en ambos casos un  $p > 0.05$ , confirmando la hipótesis alterna que demuestra de los datos analizados corresponden a una distribución normal (ver anexo tabla 5), posteriormente se realizó la prueba de Levene o de homogeneidad de varianzas, resultando del mismo modo, un  $p > 0,05$ , lo que confirma que los datos analizados corresponden a varianzas homogéneas (ver anexo tabla 6).

Así mismo, las pruebas inferenciales de ANOVA tabla 2 nos permitió determinar la existencia de grupos de datos estadísticamente diferentes en función del halo promedio; así mismo, la prueba de TUKEY tabla 3 nos ayudó a determinar cuáles de los grupos de datos presentaban diferencias estadísticamente significativas en sus actividades antibacterianas relacionadas al halo de inhibición, los valores de los resultados se calcularon con un nivel de significancia del 0.05.

En la tabla 4 muestra la sensibilidad antibacteriana mediante la escala de Duraffourd, se representan los halos promedios obtenidos por los grupos de tratamiento y control, luego se comparan, donde se aprecia que *Streptococcus mutans* ATCC 25175 presenta Sensibilidad Nula al grupo control negativo 6.17mm y es altamente sensible a todos los aceites de *Cinnamomun zeylanicum* Blume (canela) Y *Origanum Vulgare* L. (orégano) a las concentraciones del 50%, 75%, 100% y la mezcla de estos.

Wang Y. et. al. (2018) <sup>10</sup>, evaluaron el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) contra *Porphyromonas gingivalis*. En su estudio encontraron efecto antibacteriano contra esta bacteria a la concentración mínima de 6.25 µg/ml. Los resultados encontrados por Wang Y. et. al. al igual que nuestro estudio confirman la acción antibacteriana que presenta el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) con una concentración mínima de 42.32mm; así mismo, indica que el efecto antibacteriano de esta planta se debe al metabolito cinamaldehído presente en altas concentraciones en el aceite de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), por otro lado, se dilucidó que el efecto se debe a la fuga del ácido nucleico y proteínas, así como el deterioro de la permeabilidad celular que este aceite produce sobre el microorganismo.

Por otra parte, en los estudios realizados con respecto a *Origanum vulgare* (orégano) el investigador Ortega A. (2018) <sup>11</sup>, comparó este aceite contra la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* ATCC 2600 a las concentraciones

del 10%, 25%, 50%, 75% y 100% encontrando halos de inhibición a la máxima concentración de 32.5mm determinando de esta manera el efecto antibacteriano contra esta bacteria.

Estos resultados del mismo modo, se observan similares, aunque en diferente bacteria cuando se compara la acción de *Origanum vulgare* (orégano) sobre *Staphylococcus aureus* con halo de inhibición de 32.5mm y sobre *Streptococcus mutans* con halo de inhibición de 36,86 mm, por lo tanto, se puede decir que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) presenta similar efecto sobre *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*.

Por otro lado, Layme M. (2019) <sup>12</sup>, determinó el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* B. y *Origanum vulgare* L. frente a *E. faecalis* y *Candida albicans* encontrando efecto antibacteriano contra *E. faecalis* por parte del aceite de *Cinnamomum zeylanicum* B. a partir de la concentración de 14,06 mg/ml; y a la concentración de 15,17 mg/ml para *Origanum vulgare* L.; con respecto al efecto antimicótico contra *Candida albicans* este se observó a partir de la concentración de 19,98 mg/ml para *Cinnamomum zeylanicum* B. y a la concentración de 26,71 mg/ml para *Origanum vulgare* L, la unión de ambos aceites presentó efecto inhibitorio a partir de la concentración de 17,44 mg/ml.

Los valores obtenidos de la desviación estándar, se muestran elevadas en comparación al nuestro; sin embargo, el número de repeticiones son 8 en comparación con el de nosotros que es de 15, razón que puede haber modificado la exactitud o precisión en la recolección de los datos. El estudio refiere que el autor solo realizó un análisis de los datos por observación directa pero no aplicó pruebas inferenciales para determinar las diferencias de los grupos de datos.

- Por su parte Luis A., (2017) <sup>14</sup>, determinó la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) comparado con clorhexidina al 0,12% sobre *Streptococcus mutans*; encontrando actividad antibacteriana del aceite de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) hasta las 120 horas con un diámetro de inhibición promedio de 36,22 mm, y una desviación estándar de 5,6; estos valores se muestran superiores a los encontrados en el estudio, superando los valores de variación de la desviación estándar, además la prueba estadística empleada difiere de la nuestra, se empleó para el análisis la prueba T-Student (p 1,00) para la comparación de dos grupos a las 72 horas y 120 horas.

Los resultados del estudio se observan similares, al comparar el valor promedio del halo de inhibición del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) que fue de 36,22mm, con el valor promedio obtenidos en nuestro estudio, de 42,95 + 0,31 sobre la misma bacteria; por otro lado, hay que remarcar las diferencias en cuanto al tiempo de toma de datos; motivo que puede explicarse las leves variaciones en el tamaño del halo de inhibición.

Los estudios antes citados se correlacionan con los resultados obtenidos, en función de la actividad antibacteriana que presentan ambos aceites contra diferentes tipos de bacterias, sin embargo, no se encontraron estudios que hayan evaluado su actividad en conjunto, en tal sentido, los resultados encontrados en nuestra investigación corroboran la actividad antibacteriana de los aceites de *Cinnamomum zeylanicum* Blume y *Origanum vulgare* L. de manera independiente frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, así mismo, determinó la actividad antibacteriana de la mezcla de estos aceites observando que no muestran un efecto sinérgico y actuarían de manera independiente contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175, estos resultados fueron analizados en función del halo promedio obtenido y mediante las pruebas estadísticas de ANOVA y TUKEY con un nivel alfa del 0.05.

## 4.2. Conclusiones

- La mezcla de aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) y *Origanum vulgare* L. (orégano) presentaron actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- La actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) al 50%, 75% y 100% frente a *Streptococcus mutans* fue demostrada con la formación de halos de inhibición de  $31,10 \pm 0,31$  mm,  $38,23 \pm 0,36$  mm y  $42,95 \pm 0,31$  mm respectivamente.
- La actividad antibacteriana del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) al 50%, 75% y 100% frente a *Streptococcus mutans* fue demostrada con la formación de halos de inhibición de  $25,99 \pm 0,44$  mm,  $32,64 \pm 0,30$  mm y  $36,86 \pm 0,36$  mm respectivamente.
- El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) presenta halos de inhibición promedio de  $42,95 \pm 0,31$  mm mostrando mayor actividad antibacteriana que *Origanum vulgare* L. (orégano) con halos de inhibición promedio de  $36,86 \pm 0,36$  mm frente a *Streptococcus mutans*.
- No se observó la presencia de la actividad antibacteriana sinérgica de los aceites esenciales de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) y *Origanum vulgare* L. (orégano) frente a *Streptococcus mutans*.

### **4.3. Recomendaciones**

- Es necesario identificar por métodos analíticos el metabolito secundario que produce el efecto antibacteriano en ambas especies vegetales para potenciar su acción.
- Se recomienda realizar estudios de estas especies vegetales en formulaciones farmacéuticas que sirvan en tratamientos complementarios para infecciones por *Streptococcus mutans*.
- Promover el uso de estas especies vegetales en el tratamiento de infecciones o medicina alternativa en el Sector de Salud.
- Determinar la actividad antibacteriana sinérgica de las especies vegetales en estudio con medicamentos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lemos J, Palmer S, Zeng L, Wen Z, Kajfasz J, Freires I, et al. La biología de *Streptococcus mutans*. Rev ASM [Internet]. 2018;7(1). Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018>
2. Lemos J., Palmer S., Zeng L., Wen Z., Kajfasz J., Freires I. AJ y BL. The Biology of *Streptococcus mutans*. Microbiol Spectr [Internet]. 2021 [citado 24 de julio de 2021];7(1). Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018>
3. Serra M. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. Rev Habanera Ciencias Médicas [Internet]. 2017 [citado 21 de noviembre de 2021];16(3). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1729-519X2017000300011](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011)
4. Cruz S, Díaz P, Arias D, Mazón G. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. Rev Cubana Estomatol [Internet]. 2017;54(1):84-99. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/est/v54n1/est08117.pdf>
5. Graciano M, Correa Y, Martínez C, Burgos A, Ceballos J, Sánchez L. *Streptococcus mutans* y caries dental en América Latina. Revisión sistemática de la literatura. Rev Nac Odontol [Internet]. 2017;8(14):32-45. Disponible en: <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/od/article/view/282/293>
6. Rocha R. Mecanismos de Patogenicidad e Interacción : Parásito-Hospedero. [Internet]. 2016 [citado 2 de octubre de 2021]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=alEwbl7zHAYC&pg=PA130&dq=streptococcus+mutans+taxonomia&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjX99-E34fpAhXnnuAKHRDgDD4Q6AEIJAA#v=onepage&q=streptococcus+mutans+taxonomia&f=false>

7. Delucchi G, Keller H, Hurrel J. *Cinnamomum glanduliferum* y *C. VERUM* (Lauraceae) naturalizadas en la Argentina. *Bonplandia*. 2016;25(1).
8. Novoa T. Evaluación de la composición química y capacidad antioxidante de la planta de orégano ( *Origanum vulgare* L .) [Internet]. Universidad Central del Ecuador; 2019. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/17874/1/T-UCE-0008-CQU-081.pdf>
9. Husain I, Ahmad R, Chandra A, Raza S, Shukla Y, Mahdi F. Phytochemical characterization and biological activity evaluation of ethanolic extract of *Cinnamomum zeylanicum*. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 12 de junio de 2018;219:110-6. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874117330076>
10. Wang Y, Zhang Y, Shi Y, Pan X, Lu Y, Cao P. Antibacterial effects of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) bark essential oil on *Porphyromonas gingivalis*. *Microb Pathog* [Internet]. marzo de 2018;116:26-32. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401017313918>
11. Amanda. O. Determinación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*) y orégano (*Origanum vulgare*) frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600 [Internet]. Tesis De Pregrado. Universidad Politécnica Salesiana; 2018. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/16043>
12. Layme M. Efecto Antimicrobiano del Aceite Esencial de *Cinnamomum Zeylanicum* Breyn y *Origanum Vulgare* L. Frente a *Enterococcus Faecalis* y *Candida Albicans*. Estudio In Vitro. 2019 [Internet]. Universidad Privada de Tacna. Universidad Privada de Tacna; 2019 [citado 11 de julio de 2020]. Disponible en: <https://repositorio.upt.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12969/1316/Layme-Huanca-Milder.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

13. Ruiz F. Antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre *Salmonella typhi*. Universidad Nacional de Trujillo; 2019.
14. Luis A. Actividad antibacteriana del aceite esencial de Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) en comparación a la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Internet]. Universidad Privada Norbert Wiener Facultad. Universidad Norbert Wiener; 2017. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/1492/TITULO - Luis Barrientos%2C Angel Jorge.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
15. Otero A. Enfoques de Investigación. En: Métodos para el diseño del proyecto de investigación [Internet]. 2018 [citado 22 de noviembre de 2021]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/326905435\\_ENFOQUES\\_DE\\_INVESTIGACION](https://www.researchgate.net/publication/326905435_ENFOQUES_DE_INVESTIGACION)
16. Anonimo. El diseño de investigación experimental [Internet]. 2016. Disponible en: [http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia\\_III.pdf](http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia_III.pdf)
17. Cadena P, Rendón R, Aguilar J, Salinas E, De la Cruz F, Sangerman D. Métodos cuantitativos, métodos cualitativos o su combinación en la investigación: un acercamiento en las ciencias sociales. *Rev Mex Ciencias Agrícolas* [Internet]. 2017;8(7):1603-17. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v8n7/2007-0934-remexca-8-07-1603-en.pdf>
18. Otzen T, Manterola C. Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio. *Int J Morphol*. 2017;35(1):227-32.
19. Sanchez M. Los Aceites Esenciales: La Perfecta Medicina De La Naturaleza. [Internet]. Google Libros. 2017 [citado 27 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=bFPyCwAAQBAJ&printsec=frontcove>

r&dq=aceites+esenciales&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwiv3Nez6Y3uAhUDG7kGHWGaC844ChDoATAEegQIBhAC#v=onepage&q=aceites esenciales&f=false

20. McCabe W, Smith CS, Harriot P. Operaciones unitarias en ingeniería química [Internet]. Séptima Ed. Alayón PER, editor. Mc Graw Hill; 2016. Disponible en: <https://ingenieriapetroquimicaunefazulia.files.wordpress.com/2011/05/operaciones-unitarias-a.pdf>
21. FONTALVO J. Preparación De Medios De Cultivos. Manual de practicas de laboratorio de Microbiología. 2018.
22. Tellez L, Nolzco D. Estudio de la composición química del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* spp.) de Tacna Lena. Ing Ind [Internet]. 2017;35:195-205. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3374/337453922010.pdf>
23. R. C. "EFECTO SINERGICO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Origanum vulgare* (ORÉGANO) CON CIPROFLOXACIONO FRENTE A *E. coli* AMPICILINO-RESISTENTE". UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO; 2017.
24. Microbewiki. *Streptococcus mutans* [Internet]. Microbewiki. 2017 [citado 12 de enero de 2021]. Disponible en: [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Streptococcus\\_mutans](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Streptococcus_mutans)
25. Espadero M., Avilés H., Armijos L., Ávila L., Idrovo L. IM y OC. Evaluación microbiológica y composición química de extractos orgánicos de *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss sobre *Staphylococcus Aureus*, *Klebsiella Pneumoniae* y *Escherichia Coli*. La Granja Rev Ciencias la Vida [Internet]. 2019;29(1):114-24. Disponible en: <https://revistas.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/29.2019.10>
26. Weldefort AA De, Fernández SEC. Manejo de Residuos

Peligrosos/Biomédicos en los Laboratorios de Diagnóstico Universitarios.  
PAHO. 2016;

27. Zurita S. Urcia F. Manual De Procedimientos Técnicos Para El Diagnóstico Micológico [Internet]. 2017. 139 p. Disponible en: [https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/915/Manual de procedimientos tecnicos para el diagnostico micologico.final.pdf?sequence=1](https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/915/Manual_de_procedimientos_tecnicos_para_el_diagnostico_micologico.final.pdf?sequence=1)

## ANEXOS

### Anexo A. Instrumento de recolección de datos

N° de Repeticiones	<i>Cinnamomum Zeylanicum Blume</i> (CANELA)			<i>Origanum Vulgare L.</i> (ORÉGANO)			<i>Cinnamomum Zeylanicum Blume</i> (CANELA) + <i>Origanum Vulgare L.</i> (ORÉGANO)			Control (-)
	50%	75%	100%	50%	75%	100%	50%	75%	100%	
1	31,09	38,13	43,15	26,22	32,63	36,92	29,45	34,87	40,10	6,15
2	31,56	38,27	43,34	25,85	32,39	37,02	29,02	34,45	40,06	6,25
3	30,86	38,02	43,17	26,32	32,22	37,07	28,54	35,23	41,60	6,07
4	31,32	38,18	43,37	26,72	33,20	36,28	29,45	34,29	39,78	6,26
5	30,73	38,19	43,05	26,17	33,13	37,45	28,52	34,32	39,75	6,05
6	31,38	38,65	42,32	25,69	32,36	36,77	29,96	35,32	40,25	6,26
7	31,16	37,69	42,90	26,01	32,59	36,70	29,43	35,13	39,91	6,40
8	30,56	38,17	42,95	26,49	32,69	36,87	29,80	34,98	40,48	6,05
9	31,32	37,78	42,54	25,19	32,32	36,69	29,41	34,54	40,12	6,16
10	31,59	38,15	42,92	25,53	32,54	37,26	30,27	34,86	40,24	6,08
11	31,28	38,29	43,07	26,21	32,84	37,32	29,03	34,19	40,02	6,34
12	30,94	38,34	42,59	25,71	32,42	36,18	28,87	35,39	39,19	6,07
13	31,18	39,20	42,94	25,27	32,61	36,95	29,35	34,88	39,89	6,13
14	30,71	38,01	42,66	26,42	33,08	36,47	29,82	35,39	40,02	6,15
15	30,88	38,39	43,30	26,02	32,62	36,96	29,28	34,75	40,31	6,11

**Anexo B. Matriz de consistencia**

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DE LA MEZCLA DE ACEITES ESENCIALES DE *Cinnamomum Zeylanicum* Blume (CANELA) Y *Origanum Vulgare* L. (ORÉGANO) FRENTE A *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

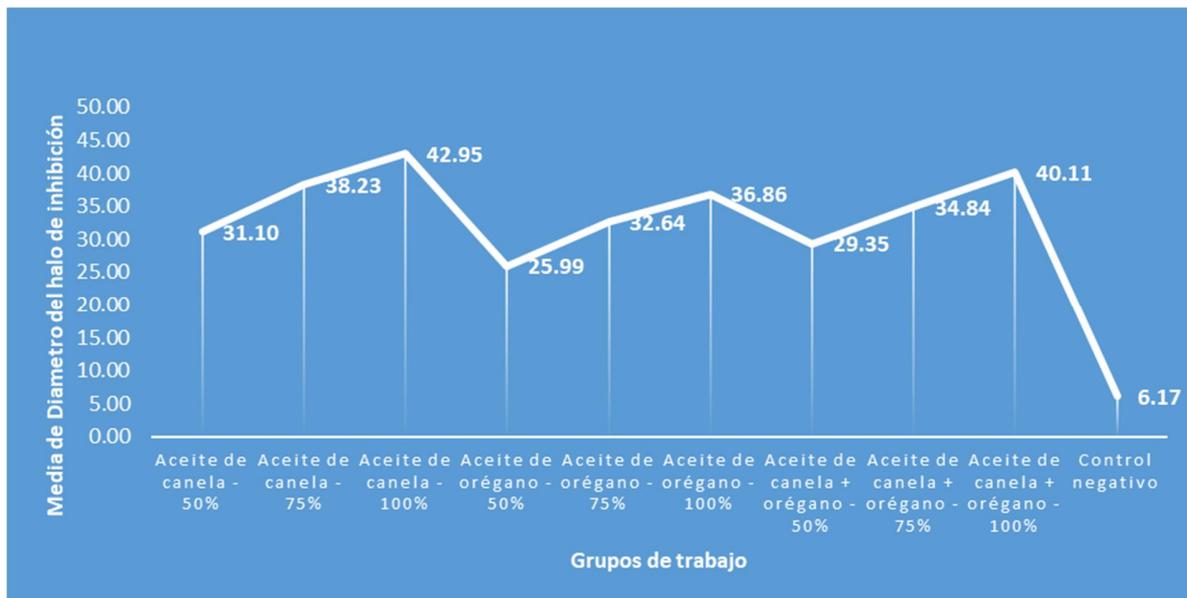
<b>Formulación del problema</b>	<b>Objetivos</b>	<b>Hipótesis</b>
<b>Problema General</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipótesis General</b>
Presentará actividad antibacteriana la mezcla de aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (canela) y <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano) frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Demostrar la actividad antibacteriana de la mezcla de aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (canela) y <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano) frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	La mezcla de los aceites esenciales de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (canela) y <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano) presentan actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175
<b>Problemas Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>
¿Cuál será la actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (canela) al 100% y 50% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ?	Determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (canela) al 100%, 75% y 50% frente a <i>Streptococcus mutans</i> .	El aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (canela) al 100%, 75% y 50% presenta actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i>
¿Cuál será la actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano) al 100% y 50% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ?	Identificar la actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano) al 100%, 75% y 50% frente a <i>Streptococcus mutans</i> .	El aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano) al 100%, 75% y 50% presenta actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i>

<p>¿Cuál de los aceites esenciales de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (canela) y <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano) presentará mayor actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i>?</p>	<p>Comparar la actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (canela) y <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano) frente a <i>Streptococcus mutans</i>.</p>	<p>El aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (canela) posee mejor actividad antibacteriana que el aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano) frente a <i>Streptococcus mutans</i></p>
<p>¿Presentará actividad antibacteriana sinérgica los aceites esenciales de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (canela) y <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano) frente a <i>Streptococcus mutans</i>?</p>	<p>Examinar la actividad antibacteriana sinérgica de los aceites esenciales de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (canela) y <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano) frente a <i>Streptococcus mutans</i></p>	<p>Existe efecto sinérgico antibacteriano entre los aceites esenciales de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (canela) y <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano) frente a <i>Streptococcus mutans</i>.</p>

### Anexo C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
Aceites esenciales de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (canela) y <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano)	Solución oleosa obtenida de las plantas con propiedades aromáticas	Obtención por medio de destilación con arrastre de vapor	Concentraciones	100 75 50	Ordinal	3	%
Actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i>	Inhibición en el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> .	Por medio de la técnica se compararán los diámetros de los halos de inhibición.	Diámetro del halo de inhibición	≤ 8mm 8mm a 14mm 15mm a 20mm > a 20mm	Ordinal	4	Nula Sensible Medio Muy sensible

**Figura: 1. Diámetro promedio de los halos de inhibición por grupo de trabajo**



**Fuente: SPSS ver. 26**

La figura 1 se observa de manera visual el comportamiento del efecto antibacteriano según el tamaño de halo de inhibición formado de los grupos de tratamientos y grupo control negativo, se puede apreciar que existe mayor efecto antibacteriano en el aceite de canela comparado con el aceite de orégano, sin embargo, las mezclas de ambos aceites no muestran efecto sinérgico presentando aún menor efecto antibacteriano que el aceite de canela.

**Tabla 5. Prueba de distribución normal**

Grupos de trabajo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Aceite de canela - 50%	0,112	15	0,200 <sup>*</sup>	0,963	15	0,747
Aceite de canela - 75%	0,194	15	0,135	0,887	15	0,601
Aceite de canela - 100%	0,168	15	0,200 <sup>*</sup>	0,949	15	0,501
Aceite de orégano - 50%	0,125	15	0,200 <sup>*</sup>	0,970	15	0,863
Aceite de orégano - 75%	0,183	15	0,187	0,921	15	0,201
Aceite de orégano - 100%	0,118	15	,200 <sup>*</sup>	0,969	15	0,846
Aceite de canela + orégano - 50%	0,151	15	,200 <sup>*</sup>	0,966	15	0,803
Aceite de canela + orégano - 75%	0,120	15	,200 <sup>*</sup>	0,934	15	0,317
Aceite de canela + orégano - 100%	0,217	15	0,055	0,834	15	0,091
Control negativo	0,198	15	0,116	0,897	15	0,086

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

**Fuente: SPSS ver. 26**

En la tabla 5 se muestra el análisis de la distribución normal, realizado mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk, con un nivel de confianza del 95,00%, se observa que el nivel de significancia calculado en tabla supera el nivel de significancia de 0,05 establecido por el estudio para todos los grupos de trabajo, por lo tanto, se confirma que todos los grupos analizados presentan distribución normal.

**Tabla 6. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)**

		<b>Estadístico de Levene</b>	<b>df1</b>	<b>df2</b>	<b>p- valor</b>
<b>Diámetro del halo de inhibición</b>	Se basa en la media	1,771	9	140	0,079
	Se basa en la mediana	1,635	9	140	0,111
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,635	9	95,939	0,116
	Se basa en la media recortada	1,769	9	140	0,079

**Fuente: SPSS ver. 26**

En la interpretación de la tabla 6, se muestra la prueba de Levene o de homogeneidad de varianzas aplicada donde luego del análisis se observa que un p-valor es superior al nivel alfa de significancia de 0,05; por lo tanto, se deduce que existe varianzas homogéneas en todos los grupos analizados con un nivel de confianza del 95,00%.

## Anexo D. Certificado de análisis de la cepa ATCC



### Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> Microorganism Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0266 Lot Number: 266-28** Reference Number: ATCC® 25175™ <sup>(1)</sup> Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2022/9/30 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2020/10/24
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the S3AP other is small, circular and translucent. <b>Microscopic Features:</b> Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and Gram Stain (1) predominately in chains	<b>Medium:</b>  <b>Method:</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative
<b>ID System: MALDI-TOF (1)</b>  See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p><small>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small></p> <p><small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p> <p><small>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p> <p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="279 1265 470 1400">   <small>REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02</small> </div> <div data-bbox="438 1400 1332 1444"> <small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiologics, Inc. Is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small> </div> <div data-bbox="279 1411 422 1467">  </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div data-bbox="279 1478 470 1601">   <small>TESTING CERT #2655.01</small> </div> <div data-bbox="518 1601 869 1624"> <small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small> </div> </div>	

**Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results**



**Meaning of Score Values**

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

**Meaning of Consistency Categories (A - C)**

Category	Interpretation
(A)	<b>High consistency:</b> The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	<b>Low consistency:</b> The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	<b>No consistency:</b> The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Streptococcus mutans  
 Sample Description: 0286  
 Sample ID: 266-28  
 Sample Creation Date/Time: 2018-10-19T10:55:23.331 CMC  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A2 (+++) (A)	266-28	Streptococcus mutans	2.15

Comments:

N/A

## Anexo E. Identificación taxonómica de *Origanum vulgare* L. (ORÉGANO)

Hamilton W. Beltrán S.  
Consultor Botánico  
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María  
hamiltonbeltran@yahoo.com

### CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "ORÉGANO" proporcionada por los Bachilleres, **DIANA VERONICA VALDERRAMA DIAZ** y **DOLY ADELID BUSTAMANTE GORDILLO**, Tesistas de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Origanum vulgare* L. y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae  
División: Magnoliophyta  
Clase: Magnoliopsida  
Subclase: Asteridae  
Orden: Lamiales  
Familia: Lamiaceae  
Especie: *Origanum*  
Especie: *Origanum vulgare* L.

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 13 diciembre 2021

|

  
Bigo. Hamilton Beltrán  
Hamilton Beltrán Santiago  
Biólogo - Botánico  
C.R.P. 3118

## Anexo F. Certificado de calidad del aceite esencial de *Cinnamomun Zeylanicum Blume* (CANELA)



Essential Oils Peru SAC  
Calle Los Viñedos 312 - La Molina, Lima  
Telf: (051) 736 9840  
ventas@eopperu.com  
www.EopPeru.com

**Mg. Dr. Jhonnell Williams Samaniego Joaquin**

Director de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica  
Universidad María Auxiliadora.

Presente.-

De nuestra consideración, reciba los saludos cordiales a nombre de Essential Oils Perú.

Por medio de la presente tenemos a bien certificar que el producto ACEITE ESENCIAL DE CANELA EOP (*Cinnamomun zeylanicum Blume*) es 100% puro, producido utilizando el método de Destilación por Arrastre de vapor.

Este certificado es emitido a solicitud de DIANA VERONICA VALDERRAMA DIAZ con DNI N° 71416938 y DOLY ADELID BUSTAMANTE GORDILLO con DNI N° 76695929 para su utilización en la investigación "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DE LA MEZCLA DE ACEITES ESENCIALES DE *Cinnamomum Zeylanicum Blume* (CANELA) Y *Origanum Vulgare L.* (ORÉGANO) FRENTE A *Streptococcus mutans* ATCC 25175".

Atentamente,

**Ing. Armando Noriega Chicco**  
Gerente General  
Essential Oils Perú

---

## Anexo G. Protocolo de conservación de los aceites esenciales



Essential Oils Peru SAC  
Calle Los Viñedos 312 - Camacho  
La Molina - Lima  
Telf: (051) 736 9840  
ventas@eopp Peru.com  
www.EopPeru.com

### Protocolo de conservación de aceites esenciales EOP

Los Aceites Esenciales (AE) EOP son 100% puros y naturales. No contienen en su constitución aditivos químicos ni conservantes. Son producidos por medio de destilación por arrastre de vapor y mantenidos en condiciones óptimas de almacenamiento pudiendo tener un tiempo de vida útil de hasta 5 años según sea el caso.

Recomendaciones de almacenamiento y conservación:

- ✓ Mantenerlos en frascos de vidrio de color oscuro, ámbar de ser posible.
- ✓ Mantenerlos con tapón y tapa para evitar la entrada constante de aire.
- ✓ Mantenerlos alejados de la luz natural y en especial de la luz ultravioleta ya que algunos compuestos son fotosensibles y pueden llegar a oxidarse.
- ✓ Se deben conservar en lugares frescos, evitando cambios bruscos de temperatura, enfriamientos y calentamientos continuos.

El tiempo de vida útil promedio es de 5 años. Sin embargo las características aromáticas se mantienen intactas por un tiempo aproximado de 1 año en la mayoría de los casos.

Observaciones:

- ✓ Los AE cítricos son más propensos a la oxidación por lo que tienen un tiempo de vida menor. Para su mejor conservación se sugiere conservarlos a temperaturas entre los 4-10°C.
- ✓ Los AE de anís, hinojo y otros de la familia *apiaceae*, tienden a solidificarse a bajas temperaturas, no implicando esto su deterioro. Para ellos, es recomendable mantenerlos a temperatura ambiente.
- ✓ Los AE de vetiver y algunos maderables tienden a cambiar de aroma con el tiempo, fenómeno conocido como maduración.

## Anexo H. Evidencias fotográficas del trabajo de campo

Figura 2. Recolección de *Origanum vulgare* L. (Orégano)



**Figura 3. Selección y separación de las hojas**



**Figura 4. Instalación del equipo de destilación por arrastre con vapor**



**Figura 5. Obtención del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (Orégano)**



**Figura 6. Decantación del aceite esencial**



**Figura 7. Preparación de las concentraciones de los aceites esenciales**



**Figura 8. Activación de la cepa**



**Figura 9. Elaboración de pozos en agar**



Figura 10. Aplicación de los aceites en el medio de cultivo



Figura: 11. Medición del halo de inhibición (CANELA Y ORÉGANO)

