



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA



EFEECTO INHIBITORIO IN VITRO DE LA SAPONINA
(*Chenopodium quinoa willd - quinoa*) SOBRE CEPAS DE
Streptococcus mutans

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. NORMA GLADYS JOVE LEON

Bach. RUTH GLORIA CANAHUIRE MAMANI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

CIRUJANO DENTISTA

PUNO – PERÚ

2021



DEDICATORIA

En primer lugar a Dios por darme la vida, a mis padres Eugenio y Eulalia por su sacrificio, esfuerzo y por creer en mí y ser mi motivación para cumplir cada objetivo trazado, a mis hermanos Maycol y Yessica por el apoyo incondicional, a mis amigos por el apoyo moral en los momentos difíciles, en especial a mi madre quien estuvo ahí apoyándome, dándome fortaleza para hacer posible la realización y culminación del presente trabajo.

Norma Jove



DEDICATORIA

La presente tesis es dedicada a dios que siempre me guía, a mis padres Anastacia y Rutilio cuyo apoyo y sacrificio ayudaron a concluir mi carrera, a mis hermanos Delia y Cristian por su compañía y confianza por apoyarme en momentos difíciles y a todas las personas que de alguna manera hicieron posible la culminación de este trabajo.

Ruth Canahuire



AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a nuestra Universidad Nacional del Altiplano por abrirnos las puertas para lograr nuestra formación profesional, a todas las personas que nos brindaron su apoyo incondicional durante el proceso de nuestra formación.

Un agradecimiento especial a la Dra. Sonia C. Macedo Valdivia por su apoyo durante el proceso de esta investigación, también por ser nuestro ejemplo a seguir y nuestra guía durante nuestra formación personal y académica.

A nuestros docentes por compartir sus conocimientos, compañeros y amigos que nos acompañaron durante estos años de estudio y nos acompañaron durante el desarrollo de este trabajo.

Norma Y Ruth



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

INDICE GENERAL

INDICE DE TABLAS

INDICE DE FIGURAS

INDICE DE ACRÓNIMOS

RESUMEN 11

ABSTRACT..... 12

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN..... 15

 1.1.1. Hipótesis alterna 15

 1.1.2. Hipótesis nula 15

1.2. OBJETIVO GENERAL..... 15

1.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... 15

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN..... 17

 2.1.1. Internacional 17

 2.1.2. Nacional..... 19

 2.1.3. Local 20

2.2. MARCO TEÓRICO 20

 2.2.1. Fitoterapia 20

 2.2.2. Quinoa (*chenopodium quinoa willd*) 21

 2.2.2.1. Características de la quinoa. 22

 2.2.2.2. Posición Taxonómica. 23

 2.2.2.4. Usos de la quinoa. 24

 2.2.3. Saponina 24

 2.2.3.1 Características generales de la saponina: 25

 2.2.3.2. Clasificación de las saponinas..... 25

 2.2.3.3. Métodos de desaponificación de la quinoa. 25



2.2.3.4. Determinación de saponina.	26
2.2.3.5. Aplicaciones de la saponina.	27
2.2.3.6. Toxicidad de la saponina.	27
2.2.4. Caries dental	28
2.2.4.1. Desarrollo.	28
2.2.5. Streptococcus mutans	29
2.2.5.1. Clasificación.	30
2.2.5.2. Cultivo.	30
2.2.5.3. Factores de virulencia.	31
CAPITULO III	
MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	32
3.1.1. Tipo de Investigación.	32
3.1.2. Diseño de Investigación.	32
3.1.3. Nivel de Investigación.	32
3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA DE INVESTIGACIÓN	32
3.2.1. Ubicación Geográfica del Estudio.	32
3.2.2. Periodo de Duración del Estudio.	33
3.2.3. Población.	33
3.2.4. Muestra.	33
3.2.5. Criterios de Selección.	34
3.2.6. Operacionalización de Variables.	36
3.3. TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	37
3.3.1. Técnica.	37
3.3.2. Instrumento de Recolección de Datos.	37
3.3.3. Recursos Humanos.	37
3.3.4. Recursos Institucionales.	37
3.4. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	37
3.4.1. Obtención de cascarilla de quinoa.	37
3.4.2. Obtención del extracto de saponina.	38
3.4.3. Obtención de la bacteria indicadora.	38
3.4.4. Aislamiento y siembra de las cepas de <i>Streptococcus mutans</i>	39



3.4.5. Reconocimiento macroscópico, microscópico y pruebas bioquímicas de <i>Streptococcus mutans</i>	40
3.4.6. Prueba de susceptibilidad microbiana por el método de discos de difusión de Kirby Bauer.	41
3.4.7. Prueba de susceptibilidad microbiana por el método de pozos en agar modificado.	42
3.5. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS	43
3.6. CONSIDERACIONES ÉTICAS	44

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS	45
4.2. DISCUSIÓN	53
V. CONCLUSIONES	56
VI. RECOMENDACIONES	57
VII. REFERENCIAS	58
ANEXOS	63

Área : Ciencias de la salud

Línea : Biología del Sistema Estomatognatico.

FECHA DE SUSTENTACION: 14 de enero 2021.



ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Comparación del efecto inhibitorio en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% sobre la bacteria *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas con el método de discos de difusión de Kirby Bauer. 47
- Figura 2.** Comparación del efecto inhibitorio de la saponina de *Chenopodium Quinoa Willd* en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% sobre *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas con el método de pozos en agar modificado. 50
- Figura 3.** Comparación del efecto inhibitorio in vitro de la saponina de *Chenopodium Quinoa Willd* en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% a las 24 horas frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutans* por los métodos de: pozos en agar modificado y el método de discos de difusión de Kirby Bauer. 51
- Figura 4.** Comparación del efecto inhibitorio in vitro de la saponina de *Chenopodium Quinoa Willd* en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% a las 48 horas frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutans* por los métodos de: pozos en agar modificado y el método de discos de difusión de Kirby Bauer. 52



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Efecto inhibitorio in vitro de la saponina de <i>Chenopodium Quinoa Willd</i> en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% a las 24 horas frente a la actividad bacteriana de <i>Streptococcus mutans</i> por el método de discos de difusión de Kirby Bauer.	45
Tabla 2. Efecto inhibitorio in vitro de la saponina de <i>Chenopodium Quinoa Willd</i> en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% a las 24 horas frente a la actividad bacteriana de <i>Streptococcus mutans</i> por el método de discos de difusión de Kirby Bauer	46
Tabla 3. Efecto inhibitorio in vitro de la saponina de <i>Chenopodium Quinoa Willd</i> en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% a las 24 horas frente a la actividad bacteriana de <i>Streptococcus mutans</i> por el método de discos de difusión de Kirby Bauer	48
Tabla 4. Efecto inhibitorio in vitro de la saponina de <i>Chenopodium Quinoa Willd</i> en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% a las 24 horas frente a la actividad bacteriana de <i>Streptococcus mutans</i> por el método de discos de difusión de Kirby Bauer	49



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

g: gramo

GE: grupo experimental

GE1: grupo experimental

GE2: grupo experimental

GE3: grupo experimental

GE4: grupo experimental



RESUMEN

Objetivo: El objetivo de esta investigación fue determinar la efectividad inhibitoria *in vitro* de saponina de *Chenopodium quinoa willd* sobre las cepas de *Streptococcus Mutans* se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.

Materiales y Métodos: El estudio fue de tipo experimental, prospectivo y longitudinal. Se obtuvo saponina de *Chenopodium quinoa willd* a partir de las cascarillas de quinoa kancolla en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, la efectividad inhibitoria fue determinada mediante los métodos difusión de Kirby Bauer y método modificado de pozos en agar, se utilizó como control positivo la clorhexidina al 0.12% y como control negativo agua destilada, el tiempo de contacto de saponina-microorganismo fue de 24 y 48 horas. Los análisis estadísticos de la prueba de “t” para la dispersión de datos, la prueba de análisis de varianza ANDEVA fueron usados para determinar la significancia y las pruebas de Tukey y Duncan para hacer las pruebas estadísticas de comparaciones.

Resultados: el mayor promedio de halo de inhibición se obtuvo a las 48 horas al aplicar el 100% de saponina mediante el método de discos de difusión de Kirby Bauer del mismo modo con el método modificado de pozos en agar y el menor promedio se obtuvo al aplicar 25% de saponina en ambos métodos; al comparar el efecto inhibitorio a las 24 y 48 horas mediante el método de discos de difusión de Kirby Bauer el mayor valor se registró a las 48 horas al 100% y el menor al 25% a las 24 horas, similares resultados se obtuvieron con el método modificado de pozos en agar. **Conclusiones:** la saponina de *Chenopodium quinoa willd* tiene efecto inhibitorio *in vitro* sobre las cepas de *Streptococcus mutans*. En ambos métodos el mayor efecto se obtuvo al 100% de saponina a las 48 horas de aplicación pero siendo mayor el halo con el método de pozos en agar.

Palabras claves (DeCS): efecto inhibitorio, Saponina, *chenopodium quinoa*, *Streptococcus mutans*.



ABSTRACT

Objective: The objective of this research was to evaluate the in vitro inhibitory effectiveness of *Chenopodium quinoa* willd saponin on *Streptococcus Mutans*'s strains. It was carried out in the Microbiology and Parasitology Laboratory's facilities of the Human Medicine's Faculty of the Altiplano's National University - Puno. **Materials and Methods:** The study was experimental, prospective and longitudinal. It was obtained *Chenopodium quinoa*'s saponin willd from the husks of quinoa kancolla in concentrations of 25%, 50%, 75% and 100%, the inhibitory effectiveness was determined by means of Kirby Bauer's diffusion method and modified method of wells in agar, it was used as positive control chlorhexidine to 0.12% and as negative control distilled water, the contact time of saponin-microorganism was of 24 and 48 hours. Statistical analyses of the "t" test for data dispersion, the ANDEVA's analysis of variance test were used to determine significance and the Tukey and Duncan's tests for statistical comparisons. **Results:** The highest average halo's inhibitory was obtained at 48 hours when 100% saponin was applied by the Kirby Bauer's diffusion disc method in the same way as the modified agar's well method and the lowest average was obtained when 25%'s saponin was applied in both methods; when comparing the inhibitory effect at 24 and 48 hours by the Kirby Bauer's diffusion disc method the highest value was recorded at 48 hours at 100% and the lowest at 25% at 24 hours, similar results were obtained with the modified agar's well method. **Conclusions:** *Chenopodium quinoa*'s willd saponin has in vitro inhibitory effect on *Streptococcus Mutans*'s strains. In both methods, the greatest effect was obtained at 100%'s saponin at 48 hours of application, but the halo was greater with the wells-agar method.

Keywords: inhibitory effect, Saponin, *chenopodium quinoa*, *Streptococcus mutans*



CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

La caries dental en el Perú es considerada un serio problema de Salud Pública, debido a que afecta la calidad de vida y personalidad de los individuos afectados, por lo que es esencial un abordaje integral del problema, aplicando medidas eficaces de promoción y prevención(1). Actualmente existen numerosos estudios destinados a investigar nuevos métodos para prevenir y tratar enfermedades bucales, en especial la caries dental, estos consisten en utilizar productos antimicrobianos químicos que a largo plazo se pueden volver perjudiciales para el organismo(2). Es por ello que en paralelo al avance de la industria farmacéutica, existe un gran interés de los investigadores en estudiar sustancias naturales que posean propiedades farmacológicas antibacterianas(3). Entre ellas, se encuentran la saponina de quinoa, que en últimas investigaciones de su actividad biológica *in vitro* e *in vivo* han asociado a las saponinas con diversos beneficios para la salud que incluyen efectos antiinflamatorios, anticancerígenos, antibacteriales, antifúngicos, y antivirales(4), puesto que son naturalmente inhibidores de crecimiento y reproducción bacteriana, hongos y además de repelentes de insectos(5). Este hecho nos da la oportunidad de utilizarlo como antibacteriano ya que en el ámbito odontológico no se han reportado estudios que avalen su efectividad sobre patógenos bucales, y su posible uso como antimicrobiano de la principal bacteria implicada en la formación de placa dentobacteriana, no reúne mayores investigaciones.

El microorganismo más importante en la génesis de la caries es el *Streptococcus Mutans* que se caracteriza por ser cocos gram positivos, anaerobios facultativos y forma parte de la flora bacteriana de la cavidad bucal(2), estas bacterias mediante sus factores de virulencia son capaces de provocar la pérdida de minerales, lo cual conduce a diseñar medidas de prevención dirigidas hacia la disminución o eliminación de esta bacteria en la cavidad oral. De tal manera que el uso de antimicrobianos y antisépticos de uso tópico o local, se ha hecho conjuntamente con las técnicas de cepillado para lograr la eliminación de la placa dentobacteriana(6).

La saponina de *Chenopodium quinoa willd* es un metabolito secundario, el cual se ha detectado en las flores, los tallos, los frutos y los granos, con mayor prevalencia en la cáscara. Es abundante en las plantas del género *Chenopodiaceae*, siendo uno de los



principales anti-nutrientes que poseen las plantas de *C. quinoa* que les dan la característica amarga a sus granos(7). Investigaciones realizadas en base a quinoa (saponina de *Chenopodium quinoa willd*) han demostrado su efecto antimicrobiano en bacterias como *Escherichia coli*, reportándose una investigación donde se evaluó la eficacia de un extracto acuoso de saponina de quinoa como desinfectante biodegradable frente al crecimiento de *Escherichia coli*, obteniéndose la mayor eficacia del desinfectante a una concentración de 100%. Sus resultados mostraron inhibición de crecimiento de *E.coli* por acción de dicho extracto(5).

En base a lo anterior es necesario investigar su efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* debido a que es la principal bacteria implicada en la génesis de la caries y por la gran prevalencia e incidencia de la misma en la población es importante la búsqueda de sustancias que inhiban su crecimiento para contribuir a mejorar la salud bucal, sobre todo de las poblaciones rurales ya que ellos no pueden adquirir artículos de higiene bucal tales como pastas dentales o dentífricos debido al costo o difícil adquisición, de esta manera el estudio de la saponina de quinoa kancolla sobre *Streptococcus mutans* puede ser utilizado como un método alternativo para la elaboración de artículos de higiene oral, pues con su ayuda, no se deberán utilizar fármacos que a largo plazo se pueden volver perjudiciales para el ser humano.

Dada la escasez de investigaciones científicas en el área temática, fortalece el valor del trabajo propuesto. De esta manera, la presente investigación podrá brindar una alternativa de elección en la inhibición de placa dentobacteriana y por consiguiente una alternativa en la prevención y tratamiento de las patologías más frecuentes de la cavidad bucal como la caries dental, como también contribuir a la base de datos para futuras investigaciones con datos reales que respalden la aplicación de la saponina frente a la bacteria *Streptococcus mutans*(8).

En afinidad con estas observaciones, el propósito de la presente investigación fue determinar la efectividad *in vitro* de la saponina de *Chenopodium quinoa willd* (quinoa) sobre las cepas de *Streptococcus Mutans* a diferentes concentraciones. Haciéndonos la siguiente interrogante:

¿Existe efecto inhibitorio *in vitro* de la saponina (*Chenopodium quinoa willd-quinoa*) sobre cepas de *Streptococcus mutans*?



1.1. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

1.1.1. HIPÓTESIS ALTERNA

La saponina de (*Chenopodium quinoa willd*-quinoa) posee efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococcus mutans*.

1.1.2. HIPÓTESIS NULA

La saponina (*Chenopodium quinoa willd*-quinoa) no posee efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococcus mutans*.

1.2. OBJETIVO GENERAL

Determinar la efectividad inhibitoria *in vitro* de la saponina de (*Chenopodium quinoa willd* -quinoa) sobre las cepas de *Streptococcus mutans*.

1.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la eficacia inhibitoria considerando el tiempo de exposición de 24 horas de saponina de *Chenopodium quinoa willd* frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutans* a concentraciones de 25, 50, 75 y 100% mediante el método de difusión de Kirby Bauer.
- Evaluar la eficacia inhibitoria considerando el tiempo de exposición de 48 horas de saponina de *Chenopodium quinoa willd* frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutans* a concentraciones de 25, 50, 75 y 100% mediante el método de difusión de Kirby Bauer.
- Comparar el efecto inhibitorio *in vitro* de la saponina de *Chenopodium quinoa willd* en concentraciones de 25, 50, 75 y 100% a las 24 y 48 horas frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutans* por el método de discos de difusión de Kirby Bauer.
- Evaluar la eficacia inhibitoria considerando el tiempo de exposición de 24 horas de saponina de *Chenopodium quinoa willd* frente a la actividad bacteriana del *Streptococcus mutans* a concentraciones de 25, 50, 75 y 100% mediante el método de pozos en agar modificado.



- Evaluar la eficacia inhibitoria considerando el tiempo de exposición de 48 horas de saponina de *Chenopodium quinoa willd* frente a la actividad bacteriana del *Streptococcus mutans* a concentraciones de 25, 50, 75 y 100% mediante el método de pozos en agar modificado.
- Comparar el efecto inhibitorio *in vitro* de la saponina de *Chenopodium quinoa willd* en concentraciones de 25, 50, 75 y 100% a las 24 y 48 horas frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutans* por el método de pozos en agar modificado.
- Comparar el efecto inhibitorio *in vitro* de la saponina de *Chenopodium quinoa willd* en concentraciones de 25, 50, 75 y 100% a las 24 horas frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutans* por los métodos de: pozos en agar modificado y el método de discos de difusión de Kirby Bauer.
- Comparar el efecto inhibitorio *in vitro* de la saponina de *Chenopodium quinoa willd* en concentraciones de 25, 50, 75 y 100% a las 48 horas frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutans* por los métodos de: pozos en agar modificado y el método de discos de difusión de Kirby Bauer.



CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1. INTERNACIONAL

González, E. et al. (2020) Mexico. Efecto antibacteriano del extracto metanólico de *Salix babylonica* sobre bacterias de importancia en salud pública. Materiales y métodos: Para la obtención del extracto utilizaron la técnica de maceración para obtener el extracto; determinaron la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) para determinar la actividad antibacteriana, identificaron compuestos fenólicos, cumarinas, lactonas, flavonoles, quinonas, triterpenos y compuestos esteroidales, Timol (0.5319 mg/mL), Carvacrol (0.4158 mg/ml) además de saponinas. Resultados: Con respecto a la actividad antibacteriana la mejor actividad se presentó contra *Bacillus subtilis* (CMI: 12.5 mg/mL y CMB: 25 mg/mL), *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* (CMI: 25 mg/mL y CMB: 50 mg/mL). Conclusión: El extracto metanólico de *Sálix babylonica* puede ser usado para tratar enfermedades producidas por bacterias resistentes o multirresistentes a antibióticos(9).

Marín, K. et al. (2017) Amazonas-Venezuela. Estudio fitoquímico y biológico preliminar de la corteza (tallo) de *Vismia cayennensis* proveniente del estado Amazonas, Venezuela. Materiales y Métodos: utilizaron el extracto hidroalcohólico de *vismia cayennensis* y el método de Kirby Bauer para determinar la actividad antibacteriana sobre cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sp.*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella sp* y *Serratia marceceus*. Resultados: El estudio fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la planta reveló presencia de flavonoides, taninos, polifenoles, triterpenos pentacíclicos y esteroles insaturados, polifenoles, triterpenos pentacíclicos y saponina. El estudio biológico antibacteriano del extracto de la planta presentó una actividad inhibitoria significativa frente a las bacterias Gram negativas *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sp.* y *Pseudomona aeruginosa*. Conclusiones: Los metabolitos presentes en la corteza de *vismia cayennensis* poseen efecto antiinflamatorio y antibacteriano (10).



Guzmán, B. et al. (2015) La Paz – Bolivia. Saponinas de *Chenopodium quinoa* willd y *Chenopodium pallidicaule aellen* como biocontroladores de hongos fitopatógenos y agentes de hemólisis. Materiales y métodos: Utilizaron el método de dilución de saponina en placa para determinar la inhibición de extractos de saponina frente a las cepas *Fusarium spp* y *Aspergillus flavus*. Resultados: Se demostró que la saponina puede inhibir hasta un 42% de *Aspergillus flavus* a los 12 días y del 47% de inhibición sobre *Fusarium spp*, las pruebas de ecotoxicidad sobre *Daphnia magna*, muestran que a una concentración de 25% p/v, los extractos de saponinas no son significativamente tóxicos para el medio ambiente, a una concentración de saponina 0.320 mg/ml un 32.215% de glóbulos rojos son lisados, valor que muestra un grado de toxicidad no muy elevado. Conclusión: Las saponinas pueden considerarse como agentes controladores de hongos fitopatógenos a largo plazo con la ventaja adicional del uso seguro para la conservación del medio ambiente y segura para los usuarios(11).

Tenorio, R. et al. (2010) La Paz – Bolivia. Concentrados de saponina de *Chenopodium quinoa* y de *Caiphora andina*: alternativas como biocontroladores de hongos fitopatógenos. Materiales y métodos: Utilizaron el método de dilución en placa donde se evaluaron concentraciones de saponina aislada de *Chenopodium quinoa* willd para disminuir la velocidad de crecimiento de hongos fitopatógenos. Resultados: Se demostró que la saponina puede inhibir el crecimiento hasta un 42 % de *Aspergillus flavus*, 35 % de *Ulocladium spp*, y 47 % de *Fusarium* a los cuatro días iniciales del experimento. Conclusión: Las saponinas pueden considerarse como agentes controladores de hongos fitopatógenos(12).

Rojas J., García A., López A. (2005) Bogotá – Colombia. Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. Materiales y métodos: utilizaron el método de pozos en agar modificado y el método de Kirby Bauer para demostrar la actividad antimicrobiana de los extractos acetónico, acuoso y etanólico de *Spilantes americana* a cuatro concentraciones (0; 0,08; 5 y 20 mg/ml). Los microorganismos de trabajo fueron *Staphylococcus aureus* *Pseudomona aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Streptococcus b hemolítico* y *Saccharomyces cerevisiae*. Resultados: Los microorganismos gram positivos fueron más sensibles, los halos de inhibición aplicados por el método de Kirby Bauer fueron menores a los halos del método modificado de pozos en agar. Conclusiones: El método modificado de pozos en agar es



más sensible, por lo que recomiendan utilizar este método para evaluar la actividad antimicrobiana en plantas medicinales (13).

2.1.2. NACIONAL

Montero M., Vayas L., Avilés D., Pasmíño P., Erazo V. (2018) Lima – Perú. Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *subespecie aureus*. Materiales y métodos: Usaron miel de abeja pura de *Apis mellifera* en una concentración al 100% emplearon los métodos de Kirby Bauer y el de pozos modificados de agar para determinar la actividad antibacteriana en cepas de *Staphylococcus aureus* Resultado: El método modificado en pozos de agar formó halos de inhibición de 25.04 mm y el de Kirby Bauer de 21.15mm el método de pozos en agar mostro mayor sensibilidad al aplicar miel de abeja de *Apis mellifera* contra la cepa bacteriana de *Staphylococcus aureus subsp. aureus*. Conclusión: El método modificado en pozos de agar es más sensible que el de Kirby Bauer (14).

Yábar E., Reyes V. (2017) Perú. Eficacia de un desinfectante biodegradable a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) en el control de crecimiento de *Escherichia coli*. Cuyo objetivo fue evaluar los factores que influyen en el porcentaje de inhibición como: carga microbiana, concentración del desinfectante y tiempo de contacto microorganismo-desinfectante (5 y 10 minutos). Materiales y métodos: la materia prima fue saponina de quinua variedad Marangani obtenida por método seco la cual aplicaron sobre cepas de *Escherichia coli*. Resultados: La mayor eficacia desinfectante fue al 100% de concentración de saponina, no hubo diferencia significativa de contacto de 5 y 10 minutos y el mayor porcentaje de inhibición fue de 14,96% al utilizar carga microbiana inicial alta, al 20% de concentración se obtuvo la menor eficacia de dicho desinfectante. Conclusión: a mayor concentración de la saponina mayor es la eficacia de la saponina sin embargo también intervienen factores como la concentración del desinfectante y la carga microbiana sobre el crecimiento de la *Scherichia Coli* (5).

Barrientos, L. (2017) Lima – Perú. Actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum Zeylanicum*) en comparación a la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de ATCC 25175. Estudio in vitro Lima 2017. Materiales y métodos: Para el análisis microbiológico sobre cepas de *Streptococcus mutans* utilizó aceite esencial de canela y el método de agar en pozo; para ello, cada placa tenía un pozo de 6 mm de diámetro



saturados con aceite esencial de canela y clorhexidina al 0.12 %; como control negativo se utilizó agua destilada estéril. Resultados: La actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomun zeylanicum*) al 100% a las 72 y 120 horas ($36,22 \pm 5,6\text{mm}$) fueron menores que la clorhexidina al 0.12% a las 72 y 120 horas ($47,65 \pm 4,6\text{mm}$) sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Conclusión: El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) muestra actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Streptococcus mutans*(15).

2.1.3. LOCAL

Aranibar, G. (2017) Puno – Perú. Efecto inhibitorio de la saponina de quinua (*chenopodium quinoa willd.*) en la flora fúngica natural e inducida de *penicillium digitatum* en naranjas (*citrus sinensis*). Materiales y métodos: La evaluación de la inhibición de crecimiento de *Penicillium digitatum* se realizó mediante el método de difusión en agar a cuatro concentraciones de polvillo de quinua: 25%, 50%, 75% y 100% con tres repeticiones por concentración. Resultados: Se demostró que el polvillo de quinua no generó halo de inhibición, a diferencia del antifúngico Tiabendazol que se empleó como control positivo de inhibición; el cual generó halos de inhibición de 16.7 mm como promedio con una concentración de 12.8 mg/ml y por otro lado los discos con diosgenina, tampoco generaron halo de inhibición siendo este componente mayoritario (5 %) de la molécula de saponina. Conclusión: La saponina de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*) no es un inhibidor del hongo *Penicillium digitatum*(16).

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. FITOTERAPIA

Desde sus inicios, el ser humano ha tratado de aliviar y mitigar sus dolencias, evitar su propia muerte o combatir enfermedades, es por esto que recurre constantemente a la naturaleza y a los recursos que ésta le ofrece, ya sean vegetales, animales o minerales. De tal manera es así que la forma en que la medicina ha sido ejercida ha ido cambiando con el paso del tiempo, sin embargo en estos tiempos aún prevalece aquella asociada al tratamiento con vegetales(17), mediante el uso de plantas medicinales ya sean enteras o sus partes, secas, frescas, solas o asociadas; así como sus extractos y formulaciones para la prevención y/o tratamiento de problemas de salud (18).



La fitoterapia es un neologismo empleado por Henri Leclerc, médico francés (1870-1955), en los comienzos de siglo, desde entonces la palabra fitoterapia es utilizada para designar la utilización de las plantas medicinales con fines terapéuticos, que serviría más tarde para diferenciarla de la forma de curar actual; la medicina sintética o convencional(19).

La Organización Mundial de Salud reconoce la importancia de las plantas medicinales en el tratamiento y prevención de múltiples enfermedades, como también la relevancia a nivel económico al ser una fuente de descubrimiento de nuevas drogas que en algunos casos tiene un menor costo a la síntesis de nuevos fármacos(19).

Es de mucho interés destacar que en la fitoterapia las plantas medicinales se pueden clasificar según el grado de acción o potencia farmacológica: muy potentes, de potencia intermedia y relativamente poco potentes. Pese a que la definición abarca los tres, en realidad los más utilizados son los dos últimos, por lo que se puede apreciar que poseen efectividad suave o moderada y se utilizan generalmente en afecciones leves o moderadas, es decir, la fitoterapia es una terapia suave(17).

Para la correcta utilización de cualquier medicamento, ya sea de origen vegetal o sintético, es necesario que su dosis, vía de administración y objetivo terapéutico sean correctamente definidos; por lo que es necesario que, en caso de utilizar directamente una planta, se utilicen al máximo sus cualidades terapéuticas. Según la tradición es posible extraer de distintas formas los principios activos de una planta, ya sean desde sus hojas (parte blanda), tallo, semillas, corteza y raíces (partes duras)(17).

2.2.2. QUINOA (*Chenopodium quinoa* Willd)

La quinoa también es conocida como: kinua, quinua, parca, quiuna; supha, jopa, jupha, jiura, aara, ccallapi y vocali; suba y pasca; quingua; quinoa, quinua dulce, dacha, dawé; jupa, jara, jupa lukhi, candonga, licsa, quiñoa su nombre completo es *Chenopodium quinoa* Willd pertenece a la clase Dicotyledoneae, familia chenopodiaceae, genero *chenopodium*, y especie quinua. La quinoa es una planta cultivada en los Andes, especialmente del Perú y Bolivia, desde hace más de 7.000 años por culturas preincas e incas(21, 22).



la semilla fue un alimento importante para los incas y sigue siendo un importante cultivo alimenticio para la población quechua y aymara de las regiones rurales, además de ser llamado “el grano madre” por lo incas y considerada sagrada, tras la llegada de los españoles el cultivo y consumo de la quinoa fue casi eliminado sin embargo prevaleció gracias a los agricultores(22).

La quinoa no es un verdadero cereal es una semilla dicotiledónea con almidón, y por lo tanto no es un cereal, por lo que se le conoce como pseudocereal sin embargo se puede consumir como tal, la quinua es más bien una fruta, es por esta razón que se le denomina como un pseudocereal e incluso una pseudo oleaginosa debido a su inusual composición y excepcional equilibrio entre aceite, proteínas y grasas también es rico en magnesio, hierro, fibra, vitamina E, cobre y fosforo su consumo es valioso particularmente para todas las células que requieren protección antioxidante de membranas, como actividad neuronal, con contenidos de minerales y aminoácidos con implicaciones potenciales para ayudar a la memoria y reducir la ansiedad bajo condiciones estresantes(15, 22).

Para su consumo o procesamiento es necesaria la eliminación de la capa externa del grano de quinoa, que contiene saponina y le confiere sabor amargo y es considerada por algunos investigadores como el principal anti nutriente de la quinua. En la actualidad existen maquinarias (escarificadoras) que eliminan la cáscara, quedando está en forma de polvillo en la base de la máquina(23).

2.2.2.1. Características de la quinoa.

La quinua es una planta anual herbácea que alcanza alturas desde 1 metro hasta los 3 metros; y presenta acumulaciones de pequeñas semillas en panojas, ubicadas en los extremos superiores de las ramificaciones. Las semillas son bastante pequeñas, de alrededor de 1,5 mm de diámetro, sin embargo, es posible encontrar variedades que llegan hasta 4 mm; los granos suelen variar de color dependiendo de la variedad desde blanco, amarillo pálido, rosado, rojo, violeta, gris hasta negro. Las mayores áreas productivas corresponden a Perú y Bolivia, aunque también son cultivadas en Colombia, Argentina, Chile y Ecuador(22, 23).

La quinua es una planta que presenta sus más altos niveles de producción en alturas sobre 2 400 y 3 200 m. s. n. m. se clasifican en cinco grandes agroecológicos, así tenemos las



quinuas de los salares, quinuas del nivel del mar, quinuas de los valles interandinos, quinuas de los yungas, y quinuas del altiplano(24).

2.2.2.2. Posición Taxonómica.

Reyno: Vegetal

División: Fenerógamas

Clase: Dicotiledóneas

Sub clase: Angiospermas

Orden: Centrospermales

Familia: Chenopodiáceas

Género: *Chenopodium*

Sección: Chenopodia

Subsección: Cellulata

Especie: *Chenopodium quinoa* Willdenow (25).

2.2.2.3. Variedades de quinoa del Perú.

En cuanto a las variedades de quinua más cultivadas en el país, se clasifican por regiones o zonas agroecológicas, descritas por Tapia (1979 y 2001). Dentro de ellas se encuentran las variedades del altiplano y de valles interandinos.

Para el primer caso, del Altiplano, tenemos variedades de buen tiempo de uso, obtenidas mediante trabajos rigurosos de selección del material local. Entre estas tenemos las siguientes variedades: Kancolla, Blanca de Juli, Cheweca, Blanca de Junín, Blanca de Hualhuas, Amarilla de Maranganí, Salcedo – INIA, INIA – Quillahuamán, Illpa – INIA, INIA 415- Pasankalla, INIA 420- Negra Collana, INIA 427- Amarilla Sacaca, INIA431- Altiplano(26).



También se puede determinar las variedades a partir del contenido de saponina presente en el grano se refieren dos variedades dulce y amarga, la variedad dulce contiene $<0.11\%$ de saponina, en cambio la variedad amarga contiene $>0.11\%$ de saponina(7).

Kancolla

Es una variedad que se originó a partir de una selección masal del ecotipo local de la zona de cabanillas (Puno). El Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA, 2013) sostiene que es una variedad con una planta de color verde con estrías de color púrpura en el tallo, la panoja glomerulada y de color rojizo. La planta alcanza alturas de 110cm con un rendimiento de 1500 a 2000 Kg/ha. su periodo vegetativo es de 170 días(26), grano blanco, tamaño mediano, con alto contenido de saponina, resistente al frío, granizo y al mildiu, muy difundida en el altiplano peruano recomendable para las zonas alejadas del lago Titicaca, como Juliaca, Cabanillas y Azángaro(27).

2.2.2.4. Usos de la quinoa.

El grano de quinoa tiene una amplia prestación para consumo humano puede utilizarse el grano entero y la harina, a partir de las cuales se pueden elaborar una amplia variedad de platos, como sopas, panes, pastas preparaciones saladas, pasteles, postres, galletas y bebidas como refrescos, cerveza y la chicha blanca de quinua, así como hojuelas en remplazo de las hojuelas de trigo y también suplementos y extruidos. Para la alimentación en animales puede utilizarse los restos de la cosecha como forraje verde, además para alimentar cerdos, aves y en vacunos para aumentar la producción de leche; finalmente la saponina presente en la cascarilla también tiene múltiples aplicaciones(21, 28).

Se le atribuyen propiedades desinflamantes, cicatrizantes analgésicas y desinfectantes de las vías urinarias es por ello que esta planta acapara la atención de investigadores dada su amplia gama de aplicaciones y propiedades aún desconocidas que requieren ser estudiados(28).

2.2.3. SAPONINA

La saponina es un metabolito secundario, está presente en toda la planta de quinua; donde su función natural es defender la planta del medio externo siendo uno de los principales factores anti nutricionales que poseen las plantas de *Chenopodium quinoa willd* Este



glucósido se caracteriza por ser de alto peso molecular, siendo conformado estructuralmente por una aglicona unida a carbohidratos a través de enlaces glucosídicos, que forman saponinas monoglicosídicas, diglicosídicas o triglicosídicas según el número de sustituciones (7, 26).

2.2.3.1 Características generales de la saponina para su identificación(29):

- Producción de espuma al ser agitadas en soluciones acuosas.
- Producción de hemólisis de los glóbulos rojos por la mayoría de ellas.
- Produce parálisis branquial en los peces.
- Producción de una reacción positiva en la prueba de Liebermann-Burchard. Por lo general, las esteroidales en esta prueba manifiestan colores que van desde el azul hasta el verde y las triterpénicas, rosado, rojo o violeta.

2.2.3.2. Clasificación de las saponinas.

Las saponinas se clasifican en cuatro grupos:

- Saponinas triterpénicas
- Saponinas esteroidales
- Saponinas esteroidales alcalinas
- Saponinas de organismos marinos(23).

2.2.3.3. Métodos de desaponificación de la quinoa.

a. Método seco.

- **A temperatura ambiente** puede ejecutarse por cepillado, molienda diferencial de granos y por escarificación. Ésta última permite eliminar el pericarpio de la semilla de quinoa mediante fricción(30).
- **A temperatura mayor que la ambiente** en este método se usa calor y se produce harina de quinoa procesada por tostado mediante una bola de hierro que rota mientras se proporciona calor con un quemador, a continuación por medio de una zaranda se separa la cascarilla tostada de la semilla. La desventaja que presenta este método es la dificultad de obtener un tostado uniforme sin quemar una parte de los granos



además de pérdidas apreciables de nutrientes, en especial aminoácidos como lisina(30).

b. Método húmedo.

Consiste en una extracción sólido- líquido de la saponina, utilizando un solvente acuoso (agua), se debe considerar que la quinua cuando es sometida a la desaponificación absorbe entre el 45 –50 % de humedad(31).

Consiste en humedecer y remojar los granos, luego se procede a frotar con las manos sobre una superficie dura y rugosa (batán), hasta remover las capas externas del grano donde se encuentra la saponina, se continúa lavando el grano con las manos hasta por seis a ocho veces, hasta que ya no salga espuma, cambiando el agua constantemente, finalmente se enjuaga dos a tres veces, hasta que el grano quede completamente sin saponina, luego se extiende al sol para que seque, teniendo la precaución de que el grano no germine, una vez completamente seco es almacenado y está lista para su utilización(20).

c. Método combinado.

Es el método más recomendable para eliminar las saponinas del grano de quinua, consiste en la combinación del proceso de escarificado y posteriormente de extracción por vía húmeda, dan mejores resultados que por vía húmeda o seca, además de ahorro del volumen de agua usado en el proceso, y una reducción de la ruptura de los granos(30).

2.2.3.4. Determinación de saponina.

Existen varios métodos para la cuantificación de saponinas de quinua y entre ellos tenemos; afrosimétrico, hemolítico, volumétrico, espectrofotométrico y cromatográfico. De estos métodos el utilizado con mayor frecuencia es el de la medición de la espuma (afrosimétrico) por su facilidad de manejo y buena correlación. El método hemolítico se basa en la propiedad de las saponinas de producir hemólisis de la sangre in vitro. En el método volumétrico se cuantifica las saponinas mediante titulación con álcali. El método espectrofotométrico mide la absorción de ácido oleanólico en longitud de onda de 527nm. La determinación cromatográfica de las saponinas puede ser realizada con cromatografía de gases o con cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)(31).



Método afrosimétrico o de espuma.

Método físico basado en su propiedad tensoactiva, que consiste en disolver en agua y agitar las saponinas hasta obtener una espuma estable, cuya altura está correlacionada con el contenido de saponinas en los granos (32).

2.2.3.5. Aplicaciones de la saponina.

Dentro de las propiedades biológicas de las saponinas se encuentra la capacidad antibacterial se demostró su capacidad como desinfectante biodegradable de efectividad similar a desinfectantes comerciales, también se demostró su eficacia sobre cepas de *scherichia coli*(28,29), también puede ser aprovechada como insecticida debido a que dificulta la supervivencia de larvas sin embargo esta puede variar de acuerdo a la concentración utilizada(34). En lo que respecta al uso de la saponina para el control de plagas Guzmán B. *et. Al.* reportaron que presentan capacidad de disminuir el crecimiento sobre cepas Bol RT-1 (*Fusarium spp*) y Bol JR-1 (*Aspegilius flavus* por ende se demuestra su capacidad biocontroladora de hongos fitopatógenos(11). de la misma manera también presenta efectos biológicos desde analgésico, antibacterial, analgésico antiviral y estudios recientes demuestran su capacidad sobre su actividad antioxidante además se puede usar para tratar el cáncer y colesterol(24).

Así mismo la saponina además de proteger a la quinua de plagas, también puede ser aplicada para la elaboración de jabones, champús y detergentes dado que produce espuma. Es por ello que muchas empresas cosméticas buscan ingredientes para sus productos de fuentes naturales y de esta manera promover su suministro de manera sostenible(35,21).

2.2.3.6. Toxicidad de la saponina.

Los niveles máximos aceptables de saponina en la quinua para consumo humano oscilan entre 0,06 y 0,12%. Esto concuerda con los resultados de pruebas sensoriales realizados en la Universidad de Ambato, Ecuador en donde se determinó que el límite máximo de aceptación del contenido de saponina en el grano cocido, fue del 0,1 %; en cuanto al contenido de saponina determinado por el método de espuma el límite máximo es de 120 mg/100g (36).



Toxicidad en animales poiquilotérmicos, en especial los peces (sapotoxinas), a los cuales provocan parálisis de las agallas(29).

2.2.4. CARIES DENTAL

La caries dental es probablemente la más prevalente dentro de las enfermedades infecciosas que afectan a los seres humanos. La caries es un proceso dinámico de desmineralización y remineralización, producto del metabolismo bacteriano sobre la superficie dentaria, este proceso conlleva a la pérdida neta de minerales y posiblemente, resultará en la presencia de una cavidad(37).

La OMS define a la caries como “un proceso localizado de origen multifactorial que se inicia después de la erupción dentaria, determinando el reblandecimiento del tejido duro del diente y evoluciona hasta la formación de una cavidad”. Según el MINSA la prevalencia de caries de acuerdo al estado epidemiológico realizado a nivel nacional en 2001 y 2002 fue de 90,4%(1).

Es el padecimiento de mayor prevalencia y costo a nivel mundial, que tiene una incidencia aproximada al 70% en la población en general, se presenta con mayor frecuencia en países en vías de desarrollo, con poco acceso a las prácticas de higiene bucal, falta de disponibilidad de cuidados dentales profesionales, un reciente aumento del consumo de azúcar como fuente barata de energía para el organismo. Puede afectar a cualquier persona que suele aparecer en la niñez y es la causa más importante de pérdida de las piezas dentarias en las personas más jóvenes(38). En el departamento de Puno la prevalencia de caries en 2015 y 2016 fue de 93,5%(39).

2.2.4.1. Desarrollo.

Factores involucrados en el proceso de la caries dental

La caries dental es una enfermedad de origen multifactorial en la que existe interacción de tres factores principales: el huésped (higiene bucal, la saliva y los dientes), la microflora (infecciones bacterianas) y el sustrato (dieta cariogénica). Además de estos factores, deberá tenerse en cuenta uno más, el tiempo. Para la formación de una caries es necesario que las condiciones de cada factor sean favorables; es decir, un huésped



susceptible, una flora oral cariogénica y un sustrato apropiado que deberá estar presente durante un período determinado de tiempo(40).

Dentro de la flora oral existe varios microorganismos que se incluyen en la patogénesis de la caries dental (*Streptococos* del grupo *mutans*, *Lactobacillus spp* y *actinomices spp*) de los cuales, *Streptococcus mutans* es el agente más importante asociado a la génesis de la caries dental(41).

2.2.5. STREPTOCOCCUS MUTANS

En 1924, Clarke aisló ciertos microorganismos a partir de caries de dentina a los que llamó *estreptococos mutantes*, debido a que con la coloración Gram se observaban de forma más ovalada que redondeada, que es la forma típica de los estreptococos, por lo que él consideró que estas bacterias eran mutantes a este género(42).

Es la especie más frecuente del grupo. Se aísla en el 70 – 90% de la población no desdentada y resistente a la caries (portadores). En individuos con caries activa o especialmente predispuestos, su cantidad aumenta significativamente. Se considera el microorganismo cariígeno por excelencia. Por su especial capacidad de colonizar superficies duras, se aísla en la cavidad oral, sobre todo a partir de placas supragingivales, radiculares y saliva, en cuyo caso su origen es secundario a la colonización en las placas. Igualmente, su papel es importante en las endocarditis subagudas, representando entre el 7 - 14% de todas las originadas por los estreptococos (43).

Los *Streptococcus* del grupo *mutans* son acidogénicos, por lo cual sobreviven y se desarrollan a un pH bajo, y acidúricos o capaces de seguir produciendo ácido en un pH bajo. Estas especies bacterianas consiguen alcanzar rápidamente el pH crítico necesario para iniciar el proceso de desmineralización. El potencial acidogénico acidúrico es importante en su virulencia. Este microorganismo produce ácido láctico a partir de la sacarosa y otros hidratos de carbono con mayor rapidez que otras bacterias bucales. El ácido láctico es fundamental en la virulencia, debido a que es el ácido más potente que interviene en la desmineralización del diente (42).

El *S. mutans* son cocos gram positivos, anaerobios facultativos y forma parte de la flora bacteriana de la cavidad bucal por ello se encuentra de forma permanente en la cavidad



oral después de la erupción dental, debido a que requiere la presencia de tejido duro no descamativo para colonizar. La principal fuente para la adquisición y transmisión del *Streptococcus mutans* en los niños es la saliva de sus madres (44).

2.2.5.1. Clasificación.

Los *Streptococcus mutans* “son genéticamente heterogéneos y pueden ser divididos en distintos tipos. Esto ha sido posible por medio del estudio de estructuras antigénicas que permiten reconocer hasta 8 serotipos, designados por letras que van de la A la H, esta subdivisión puede ser confirmada por otros estudios, tales como el análisis de la pared celular, electroforesis en gel de poliacrilamida o proteínas a partir de células completas, exámenes de las bases de ADN (porcentaje de guanina-citosina) y estudios de hibridación del ADN”. Estos serotipos se diferencian fisiológicamente ya que la fermentación y la hidrolización de azúcares es distinta, las cuales pueden ser considerados en otras subespecies o especies(45).

“El *Streptococcus mutans* puede ser asimilado por los serotipos c, e, f mientras los restantes han sido ubicados en las siguientes especies”:

- *Streptococcus cricetus* (serotipo a)
- *Streptococcus rattus* (serotipo b)
- *Streptococcus sobrinus* (serotipos d y g)
- *Streptococcus ferus* (serotipo c)
- *Streptococcus macacae* (serotipo c)
- *Streptococcus downei* (serotipo h)

2.2.5.2. Cultivo.

Streptococcus mutans es una bacteria anaerobio facultativo, es decir, que puede utilizar el oxígeno para su crecimiento; pero si este no está presente también puede sobrevivir. Sin embargo, su crecimiento óptimo ocurre en anaerobiosis (H₂:CO₂:N₂; 10:10:80, durante 48-72 h a 37 °C)(44), y un pH neutro y teniendo en cuenta estas consideraciones los medios de cultivos para dicha bacteria son recomendadas las siguientes: Como medio poco selectivo puede utilizarse MSA (*mitis salivarius agar*) que contiene un 5 por 100 de sacarosa y como sustancias inhibidoras, telurito potásico, azul tripán y cristal violeta.



Como medio más selectivo es MSB (*mitis salivarius -bacitracina*), que es MSA al que se le añade 0,2 U/ml de bacitracina y 15 gramos más de sacarosa por 100(45).

2.2.5.3. Factores de virulencia.

Los factores de virulencia ayudan y protegen al *S. mutans* de las defensas del hospedero, le permiten mantener su nicho ecológico en la cavidad oral y contribuyen con su capacidad de causar daño. Entre los principales factores de virulencia se encuentran:

- Acidogenicidad: El *Streptococcus Mutans* fermenta los azúcares de la dieta para producir ácido láctico como producto final del metabolismo. Esto hace que baje el pH y se desmineralice el esmalte dental.
- Aciduricidad: Es la capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo
- Acidofilicidad: El *Streptococcus Mutans* puede resistir la acidez del medio bombeando protones (H +) fuera de la célula.
- Síntesis de glucanos y fructanos: Por medio de enzimas como glucosil y fructosiltransferasas (GTF y FTF), se producen los polímeros glucano y fructano, a partir de la sacarosa.
- Síntesis de polisacáridos: Sirven como reserva alimenticia y mantienen la producción de ácido durante largos períodos aún en ausencia de consumo de azúcar.
- Producción de dextranaza: Movilizar reservas de energía, regula la actividad de las glucosiltransferasas removiendo productos finales de glucano(46).



CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

3.1.1. Tipo de Investigación.

De tipo prospectivo, longitudinal, analítico.

3.1.2. Diseño de Investigación.

Esta investigación es de diseño experimental porque hubo manipulación de la variable y control de los grupos.

3.1.3. Nivel de Investigación.

Nivel aplicativo

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA DE INVESTIGACIÓN

3.2.1. Ubicación Geográfica del Estudio.

a. *Ámbito general:* Departamento de Puno.

b. *Situación geográfica:* La investigación experimental fue realizada en el Departamento de Puno está ubicado al extremo sur este del Perú, entre los 13°00'00" y 17°17'30" de latitud sur y los 71°06'57" y 68°48'46" de longitud oeste del meridiano de Greenwich; cuenta con una extensión territorial de 71 999,0 km² (6 por ciento del territorio nacional) siendo el quinto departamento más grande en el ámbito nacional. Limita por el norte con la región Madre de Dios, por el este con la República de Bolivia, por el sur con la región Tacna y la República de Bolivia y por el oeste con las regiones de Moquegua, Arequipa y Cusco, está situada a una altitud de 3827 m.s.n.m., con una población estimada de 1'471,160 habitantes, lo que representa el 4.4% de la población nacional.

La obtención de la quinoa de la variedad kancolla fue realizada en el centro poblado de Cabanillas está ubicado en la Provincia de San Román, Región Puno, la cual se encuentra aproximadamente entre las coordenadas geográficas: 15°38'14" de latitud Sur y



70°20'39" de longitud oeste del meridiano de Greenwich, está situada a una altitud de 3,887 m.s.n.m., con una población estimada de 5374 habitantes.

c. *Ámbito específico:*

- Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.
- Laboratorio de aguas y suelos de la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.

3.2.2. Periodo de Duración del Estudio.

El presente trabajo de investigación que lleva como título “Efecto inhibitorio *in vitro* de la saponina (*Chenopodium quinoa willd - quinoa*) sobre cepas de *Streptococcus mutans*, se realizó entre los meses de enero a julio del 2020.

3.2.3. Población.

Cepas de *Streptococcus mutans* obtenidas de las zonas cariosas de molares de un paciente, que acudió a una clínica odontológica particular (C&M[®]) ubicado en el Jr. Lima N° 208 de la ciudad de Puno.

3.2.4. Muestra.

Cepas de *Streptococcus mutans* inoculadas en 24 placas Petri en Agar Sangre (método de pozos en agar modificado 12 placas Petri y 12 placas para Kirby Bauer), con 21 repeticiones para cada grupo experimental, con un control positivo (Clorhexidina al 0,12%) y negativo (agua /destilada) para cada tratamiento, haciendo un total de 168 muestreos.

a. Método de difusión de Kirby Bauer

Grupos experimentales

- Grupo experimental 1 (GE₁): saponina de quinoa (*Chenopodium quinoa willd*) al 25% sobre la bacteria *Streptococcus mutans*.
- Grupo experimental 2 (GE₂): saponina de quinoa (*Chenopodium quinoa willd*) al 50% sobre la bacteria *Streptococcus mutans*.



- Grupo experimental 3 (GE₃): saponina de quinoa (*Chenopodium quinoa willd*) al 75% sobre la bacteria *Streptococcus mutans*.
- Grupo experimental 4 (GE₄): saponina de quinoa (*Chenopodium quinoa willd*) al 100% sobre la bacteria *Streptococcus mutans*.

Grupos controles

- Grupo control positivo (GC+): Clorhexidina al 0,12%.
- Grupo control negativo (GC-): Agua destilada.

b. Método de pozos en agar modificado.

Grupos experimentales

- Grupo experimental 1 (GE₁): saponina de quinoa (*Chenopodium quinoa willd*) al 25% sobre la bacteria *Streptococcus mutans*.
- Grupo experimental 2 (GE₂): saponina de quinoa (*Chenopodium quinoa willd*) al 50% sobre la bacteria *Streptococcus mutans*.
- Grupo experimental 3 (GE₃): saponina de quinoa (*Chenopodium quinoa willd*) al 75% sobre la bacteria *Streptococcus mutans*.
- Grupo experimental 4 (GE₄): saponina de quinoa (*Chenopodium quinoa willd*) al 100% sobre la bacteria *Streptococcus mutans*.

Grupos controles

- Grupo control positivo (GC+): Clorhexidina al 0,12%.
- Grupo control negativo (GC-): agua destilada

3.2.5. Criterios de Selección.

Criterios de inclusión:

- Placas con siembra correcta de *Streptococcus Mutans*.

Criterios de exclusión:

- Placas contaminadas por otros microorganismos.
- Placas mal procesadas.



Selección de la muestra:

- Se realizó la selección de placas según los criterios de exclusión e inclusión.

3.2.6. Operacionalización de Variables.

VARIABLES	DEFINICIÓN	INDICADOR	SUBINDICADOR	ESCALA
VARIABLE INDEPENDIENTE				
Saponina de <i>chenopodium quinoa willd</i>	Las saponinas son un metabolito secundario, abundante en las plantas del género Chenopodiaceae(47).	Concentraciones	25%, 50%, 75%, y 100%	µL
VARIABLE DEPENDIENTE				
Inhibición del <i>Streptococcus mutans</i>	Se considera el microorganismo asociado a la caries dental por excelencia por su capacidad de colonizar superficies dentales.	Kirby Bauer	Escala de Duraffourd. -Nula > 0 – a 8mm -Sensible = a 9 – 14mm -Muy sensible = a 15 – 19mm -Sumamente sensible=> 20mm	Diámetros de halo de inhibición en mm
		Pozos en agar	Escala de Duraffourd. -Nula > 0 – a 8mm -Sensible = a 9 – 14mm -Muy sensible = a 15 – 19mm -Sumamente sensible=> 20mm	Diámetros de halo de inhibición en mm
VARIABLE INTERVIENTE				
TIEMPO	Tiempo transcurrido desde la aplicación del tratamiento.	Horas	24 y 48	horas



3.3. TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.3.1. Técnica.

Observación directa.

3.3.2. Instrumento de Recolección de Datos.

- Documental: Fichas de recolección de datos.
- Mecánico: Vernier

3.3.3. Recursos Humanos.

Director y Asesor de tesis: Dr. Cs. Fernando Chávez Fernández

- Investigadoras:
- Ruth Gloria Canahuire Mamani
 - Norma Gladys Jove León

3.3.4. Recursos Institucionales.

- Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.
- Laboratorio de aguas y suelos de la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

3.4. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.4.1. Obtención de cascarilla de quinoa.

- La quinoa (*Chenopodium quinoa willd*) de la variedad kancolla se adquirió en el centro poblado de Cabanillas.
- La saponina de *Chenopodium quinoa willd* fue extraída con el método seco para lo cual se procedió a pesar 1 kg de quinoa kancolla en una balanza, posteriormente se colocó en el escarificador por medio del cual se obtuvo la cascarilla en polvo, estas muestras se tamizaron para eliminar posibles impurezas como piedras, palillos, etc., los contenidos de saponina en el producto final oscilan entre el 0.04 y 0.25% (30).



- Se obtuvo la saponina de *Chenopodium quinoa willd* en concentración de 0.6% el cual fue determinado por el método afrosimétrico estandarizado por Latinreco 1990(32).

Método rápido

Procedimiento: Pesar 0,50 +/- 0,02g de cascarilla en polvo y colocarlos en un tubo de ensayo. Añadir 5,0 ml de agua destilada y tapar el tubo. Poner en marcha el cronometro y sacudir vigorosamente el tubo durante 30 segundos, esperar 10 segundos para que se estabilice la espuma, luego medir la altura de la espuma al 0,1cm más cercano.

Cálculos:

$$\text{mg saponinas / peso fresco} = \frac{0,441 \times (\text{altura de espuma después de 30 seg. En cm}) + 0,001}{\text{peso de la muestra en g}}$$

$$\% \text{ saponinas} = \frac{0,441 \times (\text{altura de espuma después de 30 seg. En cm}) + 0,001}{(\text{peso de la muestra en g}) \times 10}$$

- Finalmente la cascarilla obtenida fue almacenado en bolsas de papel craft para luego realizar la extracción de saponina.

3.4.2. Obtención del extracto de saponina.

El extracto acuoso se realizó en el Laboratorio de Ciencias Agrarias.

- Fue utilizado etanol al 70% como solvente de extracción de saponina de *Chenopodium quinoa willd* por maceración, la duración de la extracción fue de 24 horas en refrigeración a una relación muestra: solvente de 1:9(5).
- Se pesó 2 gramos de saponina de *Chenopodium quinoa willd* en polvo y se macero con solución hidroalcohólica 18ml (70° etanol) en frasco ámbar durante 24 horas en refrigeración.
- Se preparó soluciones a diferentes concentraciones de extracto de saponina de *Chenopodium quinoa willd* con 0,619 mg/ml de pureza de saponina, según el método afrosimétrico. Se preparó a cuatro concentraciones: 0,6mg/ml (100%); 0,5mg/ml (75%); 0,3mg/ml (50%); 0,2mg/ml (25%). Posteriormente estas fueron inoculadas en los discos y pozos de las placas Petri.

3.4.3. Obtención de la bacteria indicadora.

Recolección de la muestra de experimentación para *Streptococcus mutans*



Se obtuvo la muestra de un paciente de las zonas cariosas de los molares con hisopos estériles, dicha muestra fue colocada en un tubo de ensayo estéril con caldo peptonado que sirvió como medio de transporte, el cual fue colocado en la incubadora a 37° durante 24 horas.

Preparación del medio de cultivo (Agar sangre)

- Se pesaron las sustancias agar base 3gr y agua destilada 100ml con disolución en calor hasta obtener una solución homogénea.
- Se ajustó el pH a 6,8 – 7,2 ya que dicha bacteria exige una reacción neutra o ligeramente alcalina para su óptimo crecimiento. Para determinar el pH, se realizó con el papel indicador universal de pH.
- Se esterilizó 100ml de agar nutritivo a 15 libras de presión/pulgada a 121 °C durante 20 minutos.
- Se dejó enfriar hasta que alcance una temperatura de 45 - 50°C.
- Posteriormente se adiciono asépticamente sangre en proporción del 5% del total de la solución.
- Finalmente se repartió homogéneamente la mezcla a las 5 placas Petri para su posterior solidificación (gelación).

3.4.4. Aislamiento y siembra de las cepas de *Streptococcus mutans*.

- Se utilizó el Asa de Kohle previamente esterilizado por flameo, para la toma de muestra del tubo de ensayo con una leve inclinación y se destapo cuidadosamente para evitar la contaminación con otros microorganismos.
- Sin tocar las paredes, se introdujo el Asa de Kohle en el tubo de ensayo y se cargó con la suspensión, para posteriormente llevarla al medio de cultivo.
- Se tomó la placa con el medio de cultivo, se destapó con cuidado y se aplicó el método de siembra por estría por agotamiento, se repitió el procedimiento con las 5 placas Petri.
- Se rotularon las placas.
- Posteriormente se colocó en anaerobiosis por 24 horas y aerobiosis por 24 horas dentro de la incubadora a 37°C.



- Transcurrido el tiempo se realizó la observación del desarrollo del microorganismo.

El medio de cultivo Agar sangre nos sirvió para determinar el efecto hemolítico de la bacteria e identificar si es alfa o beta hemolítico y así proceder a su aislamiento, la identificación de colonias de *Streptococcus mutans*, se realizó en base a la observación de la morfología de las colonias y la hemólisis en el Agar(48).

3.4.5. Reconocimiento macroscópico, microscópico y pruebas bioquímicas de *Streptococcus mutans*.

La morfología macroscópica de las colonias a escoger fue opacas, convexas e irregulares en su forma, superficie granular más o menos adheridas, márgenes irregulares rodeadas de una zona como gota de agua(49).

a. Estudio microscópico

Coloración Gram

- Frotis en la lámina portaobjeto, se fijó al calor y se dejó enfriar.
- Se colocó el portaobjeto con la muestra en la bandeja de coloración y se bañó la superficie con gotas de cristal violeta durante 1 min.
- Se lavó con agua destilada y se bañó con lugol durante un minuto, luego se enjuagó con agua destilada.
- Se echó alcohol acetona para decolorar, posteriormente se lavó con agua destilada, por último, se bañó con colorante de contraste safranina por un minuto, posteriormente se lavó con agua destilada.
- Se examinó la lámina coloreada al microscopio (100x) y se observó los aspectos culturales de la colonia y estructura bacteriana (Cocos Gram positivos que se asocian en parejas de cadenas cortas y largas).

b. Pruebas Bioquímicas

Prueba a Indol: El indol producido se combinó con el aldehído del reactivo de Kovacs, para originar un compuesto de color rojo.

c. Pruebas Inmunológicas



Actividad hemolítica

3.4.6. Prueba de susceptibilidad microbiana por el método de discos de difusión de Kirby Bauer.

Las pruebas de resistencia o susceptibilidad antimicrobiana, se realizaron mediante la técnica de difusión de disco en agar de Kirby Bauer, que permitió medir la susceptibilidad *in vitro* de *Streptococcus mutans* frente al extracto de saponina con potencial antimicrobiano. Una cantidad específica de extracto de saponina de *Chenopodium quinoa willd* fue vertido a los discos inoculados con *Streptococcus mutans*. El tratamiento se difundió desde el disco al medio de cultivo produciendo una zona de inhibición(50), posterior a ello se realizó la medición de los halos y las medidas resultantes fueron comparadas con los valores de sensibilidad sugeridos por la Escala de Duraffourd en: no sensibles o nula donde el diámetro es menor a 8mm; sensibles donde el diámetro esta entre el rango de 9 - 14mm; muy sensible, donde el diámetro esta entre el rango de 15 – 19mm y sumamente sensible cuando el diámetro es mayor a 20mm(51).

a. Preparación del agar Mueller Hinton.

Se mezclaron 7gr. de Agar Mueller Hinton y 240ml de agua destilada con disolución en calor hasta obtener una solución homogénea, se midió el pH y posteriormente se colocó al autoclave a 121°C, enseguida se dejó enfriar hasta que alcance los 45°C – 50°C, después se añadió 5% de sangre. Finalmente se repartió homogéneamente la mezcla a las 12 placas Petri para su posterior solidificación (gelación).

b. Preparación del estándar 0,5 McFarland para el inóculo.

El inóculo del *Streptococcus Mutans*, fue preparado en tubos de ensayo, suspendiendo las colonias puras aisladas en 2 ml de suero fisiológico hasta obtener una turbidez de 0.5 de McFarland, que corresponde a una concentración de 1.5×10^3 alfa unidades formadoras de colonias de *Streptococcus Mutans* por 1ml (UFC/ml) (52).

c. Inoculación de las placas

La suspensión se sembró con un hisopo estéril en agar sangre, realizando líneas en forma de estrías en tres direcciones para asegurar la distribución uniforme del inóculo, antes de



colocar los discos se dejó secar las placas Petri a temperatura ambiente durante 15 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido, efectuándose este procedimiento en las 12 placas respectivamente.

d. Aplicación de los discos

Se realizó siete pocillos, seis alrededores y uno en el centro, separados uniformemente se colocó individualmente los discos de papel filtro dentro de los pocillos con la ayuda de una pinza estéril. Posteriormente con la ayuda de una pipeta automática se suministró 10µl de extracto de saponina de *Chenopodium quinoa willd* a diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. Todos los ensayos de actividad antimicrobiana se realizaron con tres repeticiones.

e. Incubación

Para llevar a la incubadora se tuvo en reposo por un espacio de 30 minutos de todas las placas con los tratamientos. Pasado el tiempo se colocó las placas Petri en posición invertida a 37°C posteriores a la aplicación de los discos. Después de las 24 y 48 horas, luego del periodo de incubación se realizó la lectura o medición de los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco sobre la bacteria *Streptococcus mutans*.

f. Lectura de las placas e interpretación de los resultados

Luego del periodo de incubación se realizó la lectura o medición de los halos de inhibición incluyendo el diámetro del disco en mm con un vernier. Se mantuvo iluminada la parte posterior de la placa Petri con una luz reflejada localizada a unos cuantos centímetros sobre un fondo negro.

3.4.7. Prueba de susceptibilidad microbiana por el método de pozos en agar modificado(53).

Las pruebas de resistencia o susceptibilidad antimicrobiana se realizaron mediante el método de pozos en agar modificado, se realizó por triplicado para cada tratamiento 21 repeticiones en 12 placas con sus respectivos controles, la siembra se hizo siguiendo el procedimiento indicado para la prueba de difusión en agar, que permitió medir la susceptibilidad *in vitro* de *Streptococcus mutans* frente al extracto de saponina de *Chenopodium quinoa willd* con potencial antimicrobiano. Una cantidad específica de un



tratamiento fue vertido a los pozos de agar inoculado con *Streptococcus mutans*. El tratamiento se difundió desde el pozo al medio de cultivo produciendo una zona de inhibición, posterior a ello se realizó la medición de los halos y las medidas resultantes fueron comparadas con los valores de sensibilidad sugeridos por la Escala de Duraffourd en: no sensibles o nula donde el diámetro es menor a 8mm; sensibles donde el diámetro esta entre el rango de 9 - 14mm; muy sensible, donde el diámetro esta entre el rango de 15 – 19mm y sumamente sensible cuando el diámetro es mayor a 20mm(51).

El procedimiento es igual al método de Kirby Bauer en cuanto a preparación de agar Mueller Hinton, preparación del estándar 0.5 Mc Farland para el inóculo e inoculación de las placas; se realizó siete pocillos, seis al rededor y uno en el centro separados uniformemente, posteriormente con la ayuda de una pipeta automática se suministró 10µl de extracto de saponina a diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% en los pozos. Todos los ensayos de actividad antimicrobiana se realizaron con tres repeticiones.

Para llevar a la incubadora se tuvo en reposo por un espacio de 30 minutos para evaporar el líquido de todas las placas con los tratamientos finalmente se incubó con la placa invertida. Pasado el tiempo se incubó las placas Petri a 37°C por 24 horas, luego del periodo de incubación se realizó la lectura o medición de los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco sobre la bacteria *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas.

Lectura de las placas e interpretación de los resultados

Luego del periodo de incubación se realizó la lectura o medición de los halos de inhibición incluyendo el diámetro del disco en mm con un vernier digital. Se mantuvo iluminada la parte posterior de la placa Petri con una luz reflejada localizada a unos cuantos centímetros sobre un fondo negro.

3.5. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

3.5.1. Plan de recolección de datos.

Se registró, codificó y clasificó los datos observados en la ficha de recolección de datos, para lo cual la recolección de datos se realizó 3 veces la medición del halo inhibitorio por cada disco con las concentraciones del extracto de saponina al 25%, 50%, 75% y 100% y



también los controles con Clorhexidina al 0.12% y el agua destilada en todas las placas, luego se registraron todos los datos en la ficha de recolección en 24 y 48 horas, se midió la sensibilidad de los microorganismos mediante la Escala de Duraffourd.

3.5.2. Análisis estadístico.

Se utilizó los análisis estadísticos de la prueba de “t” para la dispersión de datos, la prueba de análisis de varianza ANDEVA para determinar la significancia y la prueba de Tukey y Duncan para hacer las pruebas estadísticas de comparaciones. De esta forma se obtuvo evidencia científica que respalde la aplicación clínica de la saponina de quinoa.

3.6. CONSIDERACIONES ÉTICAS

- Solicitud dirigida al Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.
- Constancia de haber realizado la obtención de extracto de saponina de (*Chenopodium quinoa willd*) en el Laboratorio de aguas y suelos de la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.
- Constancia de haber ejecutado el proyecto en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.
- Consentimiento informado del paciente.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

TABLA 1. EFECTO INHIBITORIO *IN VITRO* DE LA SAPONINA DE *Chenopodium quinoa willd* EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% A LAS 24 HORAS FRENTE A LA ACTIVIDAD BACTERIANA DE *Streptococcus mutans* POR EL MÉTODO DE DISCOS DE DIFUSIÓN DE KIRBY BAUER.

PRUEBA ESTADISTICA DE t CONCENTRACIÓN DEL TRATAMIENTO	DIAMETROS DE LOS HALOS INHIBITORIOS A LAS 24 HORAS A DIFERENTES CONCENTRACIONES				
	25%	50%	75%	100%	CONTROL +
PROMEDIO	9.80 mm	10.65 mm	11.68 mm	12.80 mm	16.29 mm
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	± 0.35	± 0.19	± 0.22	± 0.31	± 0.24
LÍMITE INFERIOR	9.63 mm	10.55 mm	11.57 mm	12.65mm	16.17 mm
LÍMITE SUPERIOR	9.97 mm	10.75 mm	11.79 mm	12.95 mm	16.41mm
T _{CALCULADO}	119.44	235.65	225.01	175.92	285.26
PROBABILIDAD	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

FUENTE: Elaborado por el equipo de investigación.

INTERPRETACIÓN

El mayor efecto inhibitorio se obtiene con la aplicación de la saponina al 100% con un promedio de 12.80mm y el menor efecto inhibitorio se da con la aplicación de la saponina a una concentración de 25% con un promedio de halo de inhibición de 9.80mm. Concluimos que a mayor concentración mejor efecto de la saponina frente a la bacteria *Streptococcus mutans*.

TABLA 2. EFECTO INHIBITORIO *IN VITRO* DE LA SAPONINA DE *Chenopodium quinoa willd* EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100%. A LAS 48 HORAS FRENTE A LA ACTIVIDAD BACTERIANA DE *Streptococcus mutans* POR EL MÉTODO DE DISCOS DE DIFUSIÓN DE KIRBY BAUER.

PRUEBA ESTADÍSTICA DE t	DIAMETROS DE LOS HALOS INHIBITORIOS A LAS 48 HORAS A DIFERENTES CONCENTRACIONES				
	CONCENTRACIÓN DEL TRATAMIENTO	25%	50%	75%	100%
PROMEDIO	10.96 mm	11.89 mm	12.68 mm	13.67 mm	16.37 mm
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	± 0.25	± 0.24	±0.17	±0.21	± 0.19
LÍMITE INFERIOR	10.84 mm	11.77 mm	12.59 mm	13.56 mm	16.27 mm
LÍMITE SUPERIOR	11.08 mm	12.01 mm	12.76 mm	13.77 mm	16.46 mm
T _{CALCULADO}	187.77	206.15	323.10	274.23	369.61
PROBABILIDAD	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

FUENTE: Elaborado por el equipo de investigación.

INTERPRETACIÓN

El mayor efecto inhibitorio se obtiene con la aplicación de la saponina al 100% con un promedio de 13.67mm, el menor efecto inhibitorio se da con la aplicación de la saponina a una concentración de 25% con un promedio de halo de inhibición de 10.96mm. Concluimos que a mayor concentración es mejor el efecto de la saponina frente a la bacteria *Streptococcus mutans*.

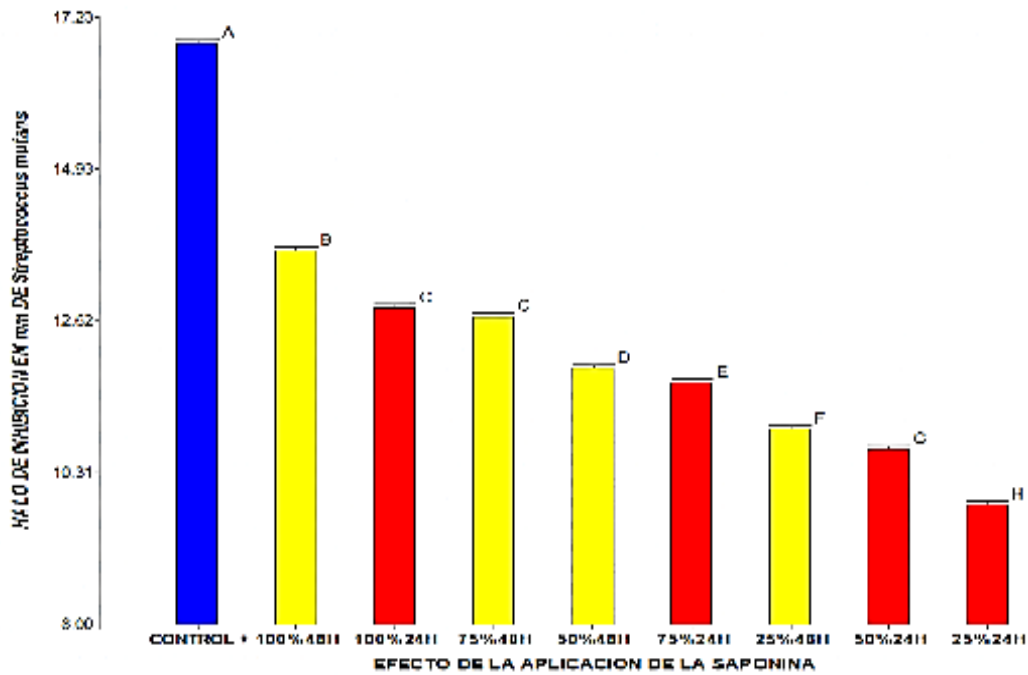


FIGURA 1. COMPARACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% SOBRE LA BACTERIA *Streptococcus mutans* A LAS 24 Y 48 HORAS CON EL MÉTODO DE DISCOS DE DIFUSIÓN DE KIRBY BAUER.

FUENTE: Elaborado por el equipo de investigación.

INTERPRETACIÓN

En la figura 1, se observa que no existe diferencia significativa al aplicar saponina al 75% a las 48 horas y 100% a las 24 horas, por otro lado el mayor promedio de halo se observa al aplicar 100% de saponina a las 48 horas. Por lo que se concluye que a mayor tiempo de contacto con la saponina mayor será el efecto inhibitorio frente a la bacteria *Streptococcus mutans*.

TABLA 3. EFECTO INHIBITORIO *IN VITRO* DE LA SAPONINA DE *Chenopodium quinoa willd* EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% A LAS 24 HORAS FRENTE A LA ACTIVIDAD BACTERIANA DE *Streptococcus mutans* POR EL MÉTODO DE POZOS EN AGAR MODIFICADO.

PRUEBA ESTADÍSTICA DE t	DIAMETROS DE LOS HALOS INHIBITORIOS A LAS 24 HORAS A DIFERENTES CONCENTRACIONES				
	25%	50%	75%	100%	CONTROL +
CONCENTRACIÓN DEL TRATAMIENTO					
PROMEDIO	10.68 mm	11.59 mm	12.82 mm	13.02 mm	16.71 mm
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	± 0.18	± 0.27	± 0.37	± 0.37	± 0.19
LÍMITE INFERIOR	10.59 mm	11.45 mm	12.63 mm	12.83 mm	16.61 mm
LÍMITE SUPERIOR	10.77 mm	11.72 mm	13.00 mm	13.20 mm	16.80 mm
T_{CALCULADO}	248.62	182.21	147.67	149.98	380.63
PROBABILIDAD	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

FUENTE: Elaborado por el equipo de investigación.

INTERPRETACIÓN

En la tabla 3, se observa que no existe diferencia significativa al aplicar saponina al 100% y 75% por último el menor promedio de halo de inhibición se da con la aplicación de saponina a una concentración de 25% con 10.68mm. Concluimos que a mayor concentración mejor efecto de la saponina frente a la bacteria *Streptococcus Mutans*.

TABLA 4. EFECTO INHIBITORIO *IN VITRO* DE LA SAPONINA DE *Chenopodium quinoa willd* EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% A LAS 48 HORAS FRENTE A LA ACTIVIDAD BACTERIANA DE *Streptococcus mutans* POR EL MÉTODO DE POZOS EN AGAR MODIFICADO.

PRUEBA ESTADÍSTICA DE t	DIAMETROS DE LOS HALOS INHIBITORIOS A LAS 48 HORAS A DIFERENTES CONCENTRACIONES				
	25%	50%	75%	100%	CONTROL +
CONCENTRACIÓN DEL TRATAMIENTO					
PROMEDIO	11.61 mm	12.41 mm	13.52 mm	14.19 mm	16.84 mm
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	± 0.13	± 0.13	± 0.23	± 0.31	± 0.20
LÍMITE INFERIOR	11.54 mm	12.35 mm	13.40 mm	14.03 mm	16.74 mm
LÍMITE SUPERIOR	11.67 mm	12.47 mm	13.63 mm	14.34 mm	16.94 mm
T _{CALCULADO}	377.35	411.93	254.23	193.95	351.37
PROBABILIDAD	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

FUENTE: Elaborado por el equipo de investigación

INTERPRETACIÓN

En la tabla 4 el mayor efecto inhibitorio se obtiene con la aplicación de la saponina al 100% con un promedio de 14.19mm y el menor promedio con la aplicación de saponina al 25% con un promedio de 11.61mm por esta razón considerándose sensible frente a la bacteria *Streptococcus Mutans*. Concluimos que a mayor concentración de saponina mejor es el efecto inhibitorio frente a la bacteria *Streptococcus mutans*.

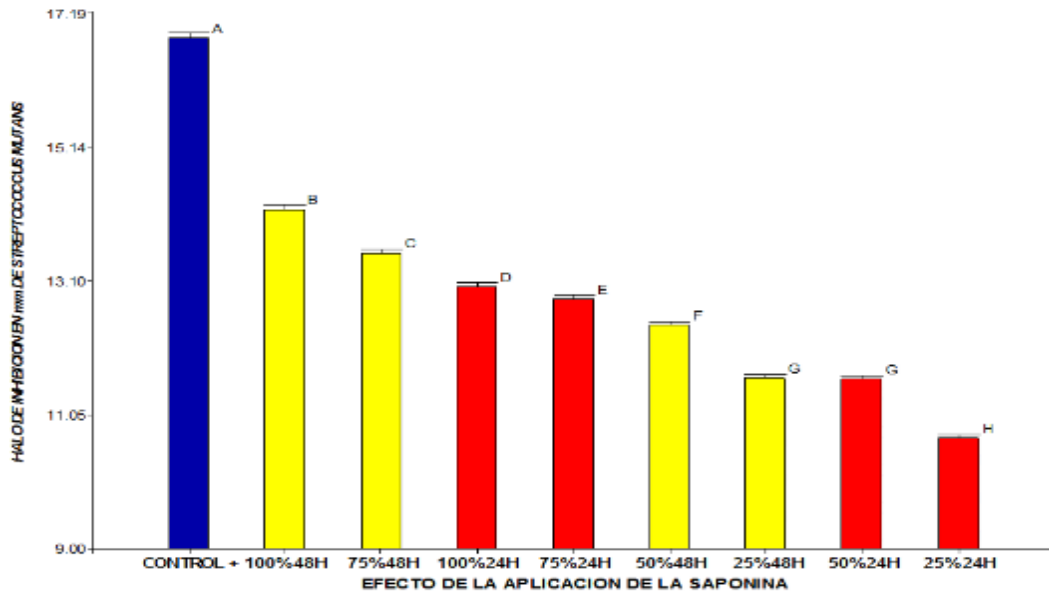


FIGURA 2. COMPARACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO DE LA SAPONINA DE *Chenopodium quinoa willd* EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% SOBRE *Streptococcus mutans* A LAS 24 Y 48 HORAS CON EL MÉTODO DE POZOS EN AGAR MODIFICADO.

FUENTE: Elaborado por el equipo de investigación

INTERPRETACIÓN

En la figura 2, se observa que la saponina a las 48 horas obtuvo mayores halos de inhibición a diferencia de la saponina a las 24 horas. Por lo que se concluye que a mayor concentración y a mayor tiempo de contacto de la saponina mayor es el efecto inhibitorio frente a la bacteria *Streptococcus mutans*.

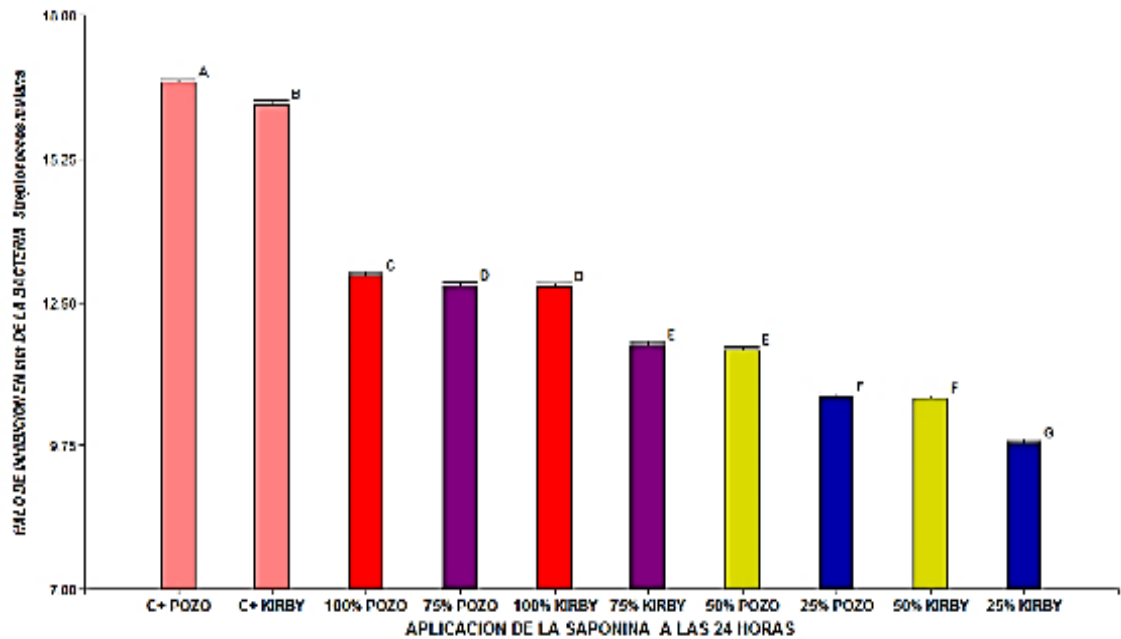


FIGURA 3. COMPARACION DEL EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE LA SAPONINA DE *Chenopodium quinoa willd* EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% A LAS 24 HORAS FRENTE A LA ACTIVIDAD BACTERIANA DE *Streptococcus mutans* POR LOS MÉTODOS DE: POZOS EN AGAR MODIFICADO Y EL MÉTODO DE DISCOS DE DIFUSIÓN DE KIRBY BAUER.

FUENTE: Elaborado por el equipo de investigación

INTERPRETACIÓN

En la figura 3, los halos de inhibición del método modificado de pozos en agar obtuvieron mayores halos de inhibición que el método de Kirby Bauer. Por lo que se concluye que el método modificado de pozos en agar es más sensible que el método de Kirby Bauer frente a la bacteria *Streptococcus mutans*.

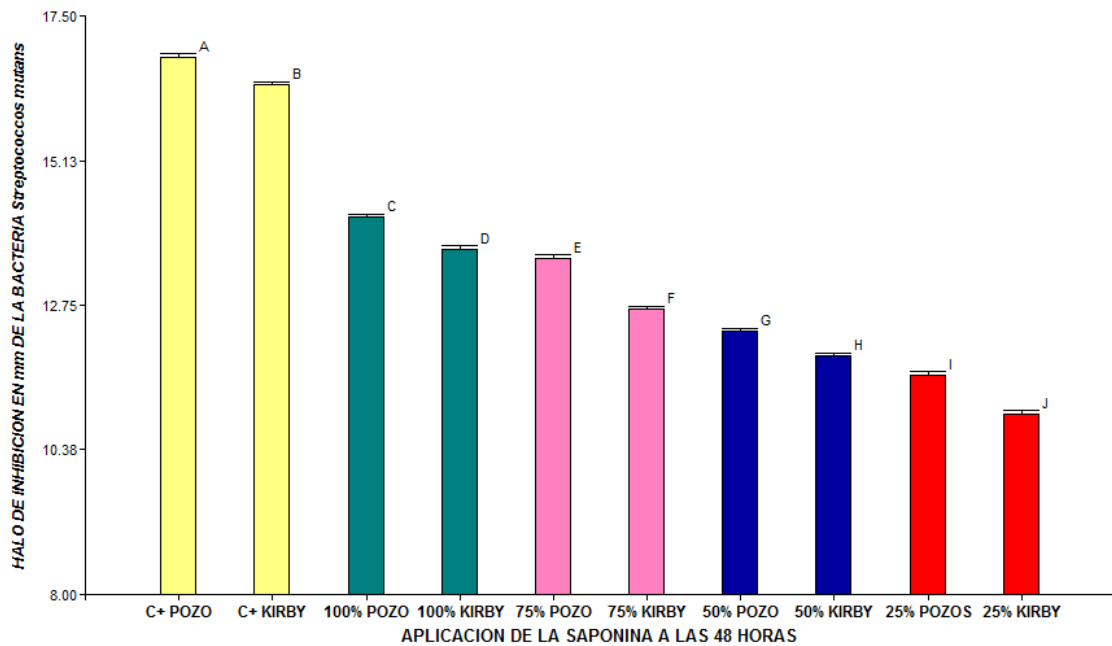


FIGURA 4. COMPARACION DEL EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE LA SAPONINA DE *Chenopodium quinoa willd* EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% A LAS 48 HORAS FRENTE A LA ACTIVIDAD BACTERIANA DE *Streptococcus mutans* POR LOS MÉTODOS DE: POZOS EN AGAR MODIFICADO Y EL MÉTODO DE DISCOS DE DIFUSIÓN DE KIRBY BAUER.

FUENTE: Elaborado por el equipo de investigación

INTERPRETACION

En la figura 4, la saponina a las 48 horas de contacto mediante el método de pozos en agar obtuvo mayores halos de inhibición en contraste a los halos observados por el método de Kirby Bauer por lo tanto el método modificado de pozos en agar es más sensible que el método de Kirby Bauer frente a la bacteria *Streptococcus mutans*.

4.2. DISCUSIÓN

La presente investigación tuvo como objetivo principal: determinar la efectividad *in vitro* de la saponina de *Chenopodium quinoa willd* (quinoa) al 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* que colonizan la cavidad oral. Determinándose que todos los tratamientos con extracto de saponina tienen efecto inhibitorio *in vitro* tanto a las 24 como a las 48 horas. El mayor efecto inhibitorio se obtuvo con una concentración de 100% del extracto de saponina y un menor efecto de inhibición a una concentración de 25% resultados similares reportaron Yábar E., Reyes V.(5) en su investigación Eficacia de un desinfectante biodegradable a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) en el control de crecimiento de *Escherichia coli*. en la cual demostraron que la mayor eficacia del desinfectante fue al 100% de concentración de saponina y la menor eficacia del desinfectante cuando se utilizó 20% de concentración de dicho desinfectante, de forma similar a los resultados obtenidos en esta investigación, es posible que la acción inhibitoria de la saponina se deba a que actúa en la membrana celular de las bacterias formando complejos con los esteroides de las membranas celulares y produce grandes poros en las mismas que alteran su permeabilidad y la célula lisa.

González, E. et al.(9) En su investigación del efecto antibacteriano del extracto metanólico de *Salix babylonica* sobre bacterias de importancia en salud pública encontraron dentro de los compuestos de la planta saponina además de otros metabolitos secundarios, donde finalmente concluyeron que el extracto de la planta puede ser empleado para el tratamiento de enfermedades. Por otro lado Marín, K. *et al.* (10) En su investigación Estudio fitoquímico y biológico preliminar de la corteza (tallo) de *vismia cayennensis* proveniente del estado Amazonas, Venezuela también hallaron saponina dentro sus compuestos demostrando mediante su estudio biológico que presenta actividad inhibitoria significativa frente a bacteria; teniendo en cuenta estas referencias en esta investigación también se demostró la efectividad inhibitoria de la saponina sobre las cepas de *Streptococcus mutans*.

Es necesario también tener en cuenta estudios que se realizaron acerca de la saponina de quinoa, pero en diferentes microorganismos como es el de Guzmán, B. *et al.*(11) en su investigación “Saponinas de *Chenopodium quinoa willd* y *Chenopodium pallidicaule aellen* como biocontroladores de hongos fitopatógenos y agentes de hemólisis”



demonstraron que la saponina puede inhibir hasta un 42% de *Aspergillus flavus* y 47% de *Fusarium spp* a los 12 días, similares resultados reportaron Tenorio, R. *et al.*(12) quienes evaluaron la actividad biocontroladora de extractos concentrados de *Caiphora andina* y el concentrado de saponina aislado de la cascara de *Chenopodium quinoa Willd.*, demostraron que la saponina puede inhibir el crecimiento hasta un 42 % de *Aspergillus flavus*, 35 % de *Ulocladium spp*, y 47 % de *Fusarium* a los cuatro días iniciales del experimento. La capacidad antifúngica se debe a que la saponina forma complejos con esteroides, proteínas y fosfolípidos de membranas, el cual representa el principal mecanismo de actividad antifúngica de las saponinas(54). Por otro lado Aranibar, G. (16). Quien evaluó el efecto inhibitorio de la saponina de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) aplicado sobre *Penicillium digitatum* de cepa aislada y cepa codificada, demostró que el polvillo de quinua no generó halo de inhibición, esto podría deberse a que la saponina con sus propios compuestos no tiene efecto inhibitorio sobre algunas familias de hongos como es el caso del *Penicillium digitatum*. Por lo tanto confrontando Aranibar, G. se dedujo que la saponina posee efecto inhibitorio sobre la bacteria *Streptococcus mutans* esto es probablemente debido a la formación de saponinas más hidrófobas que tienen una mayor afinidad con los esteroides presentes en las membranas celulares.

En cuanto a la metodología empleada para evaluar la efectividad inhibitoria *in vitro* de la saponina de *Chenopodium quinoa willd* sobre cepas de *Streptococcus mutans* en esta investigación se utilizó dos métodos el método modificado de pozos en agar el cual mostró mayores halos de inhibición en contraste con el método de Kirby Bauer, similares resultados reportaron Montero M., Vayas L., Avilés D., Pasmíño P., Erazo V. (14) quienes evaluaron dos métodos de sensibilidad para la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus subsp. aureus* por el método de pozos en agar modificado y Kirby Bauer en el cual obtuvieron mayores halos con el método de pozos en agar que el de Kirby Bauer. Así mismo Rojas J., García A., López A.(13) reportaron que la media del método modificado de pozos en agar es superior a las del método de Kirby Bauer es probable que se deba a que el método de Kirby Bauer sea menos sensible debido a la celulosa que compone el papel filtro usado en este método interfiera con los productos naturales absorbiéndolos en la superficie del disco impidiendo con la difusión de estos en el agar,(55); esto explicaría la alta sensibilidad detectada en el método modificado de pozos en agar teniendo en cuenta que el papel filtro es obviado en este método. Por lo



tanto se sugiere utilizar el método de pozos en agar para determinar la actividad antibacteriana al usar sustancias de origen natural. Finalmente Barrientos, L.(56) en su investigación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum Zeylanicum*) en comparación a la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*; en la cual empleó el método modificado de pozos en agar donde la clorhexidina obtuvo mayores halos de inhibición que al aplicar aceite esencial de canela (*Cinnamomum Zeylanicum*), así mismo en esta investigación los halos de inhibición de la clorhexidina fueron mayores en comparación a los halos de inhibición de los métodos de Kirby Bauer y pozos en agar modificado. De esta manera se concluye que la saponina posee actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* la cual se demostró en el presente trabajo, obteniendo resultados positivos tanto con el método de Kirby Bauer y método de pozos en agar modificado.



V. CONCLUSIONES

- La saponina de *Chenopodium quinoa willd* presenta efecto inhibitorio en sus diferentes concentraciones sobre la cepa de *Streptococcus mutans* a las 24 horas, teniendo su mayor efecto a la concentración de 100% mediante el método de difusión de Kirby Bauer.
- La saponina de *Chenopodium quinoa willd* a sus diferentes concentraciones presenta efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococcus mutans* a las 48 horas, teniendo su mayor efecto al 100% de concentración mediante el método de difusión de Kirby Bauer.
- la saponina de *Chenopodium quinoa willd* a las 24 y 48 horas tiene efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococcus mutans* a sus diferentes concentraciones, mostrando mayor efecto a una concentración de 100% a las 48 horas.
- A sus diferentes concentraciones la saponina de *Chenopodium quinoa willd* tiene efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococcus mutans* a las 24 horas, presentando el mayor efecto al 100% de concentración mediante el método de pozos en agar modificado.
- A sus diferentes concentraciones la saponina de *Chenopodium quinoa willd* tiene efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococcus mutans* a las 48 horas, presentando el mayor efecto al 100% de concentración mediante el método de pozos en agar modificado.
- La saponina de *Chenopodium quinoa willd* a sus diferentes concentraciones presenta efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas, mostrando mayor efecto a una concentración de 100% a las 48 horas.
- La saponina de *Chenopodium quinoa willd* a las 24 horas tiene mayor efecto inhibitorio con el método de pozos en agar modificado que con el método de Kirby Bauer.
- A las 48 horas la saponina de *Chenopodium quinoa willd* tiene mayor efecto inhibitorio con el método de pozos en agar modificado en relación al método de Kirby Bauer.



VI. RECOMENDACIONES

Realizar estudios experimentales *in vitro* con la saponina de *Chenopodium quinoa willd* en diferentes bacterias patógenas orales para aumentar la evidencia de su efecto antibacteriano.

Fomentar la investigación de la quinoa para descubrir las propiedades que posee en benéfico de la Odontología.

Realizar estudios para determinar la posible toxicidad a mayores concentraciones.

Determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) en relación a bacterias patógenas orales.

Se recomienda realizar trabajos comparativos aplicando los principios activos de la saponina de *Chenopodium quinoa willd* en diferentes productos de higiene oral y otros.



VII. REFERENCIAS

1. Ministerio de Salud. Gobierno del Perú [Internet]. Salud Bucal. Lima, Perú, Ministerio de Salud (MINSA). [cited 2020 Sep 6]. Available from: http://www.minsa.gob.pe/portalweb/06prevencion/prevencion_2.asp?sub5=13
2. Zevallos Escobar LE. Actividad inhibitoria del crecimiento de la cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC®25175TM por acción de aceite esencial de *Lippia alba* (Pampa orégano [Bachiller]. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote; 2018.
3. Castro Arqueros VM. Inhibición del crecimiento in vitro de *Streptococcus mutans* por papaina y sanitrend [Bachiller]. Universidad de Chile; 2005.
4. Condori Rodríguez A. Efecto de la aplicación de gel al 10% del extracto lipídico de la quinua (Negra collana) en la reparación tisular en gingivoplastia en cobayos, Puno, 2018 [Bachiller]. Universidad Nacional del Altiplano Puno; 2019.
5. Yábar V EF, Reyes D VJ. Eficacia de un desinfectante biodegradable a base de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en el control de crecimiento de *Escherichia coli* [Internet]. Universidad Nacional del. 2017 [cited 2020 Jul 6]. p. 6. Available from: <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/4682>
6. Romero H M, Hernández Y, Gil M. Actividad inhibitoria de la *Matricaria Recutita* “Manzanilla Alemana” sobre el *Streptococcus mutans*. *Rev Latinoam Ortod y Odontopediatría*. 2009;6(24).
7. Ahumada A, Ortega A, Chito D, Benitez R. Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico. *Rev Colomb Ciencias Químico-Farmacéuticas*. 2016;3(45):438.
8. Cosco Robles DA. Actividad inhibitoria del crecimiento de *Streptococcus mutans* y de flora mixta salival por acción del aceite esencial de la *Matricaria chamomilla* manzanilla [Bachiller]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010.
9. González Alamilla E, Rivas Jacobo M, Sosa Gutiérrez C, Delgadillo Ruiz L, Valladares Carranza B, Rosenfeld Miranda C, et al. Antibacterial effect of the methanol extract of *Salix babylonica* against important bacteria in public Health. *Abanico Vet*. 2020;10(1):1–11.
10. Marín K, D’Armas H, Maillo M, Villamizar J, García Mirian. Estudio fitoquímico y biológico preliminar de la corteza (tallo) de *Vismia cayennensis* proveniente del estado Amazonas, Venezuela. *Rev Cienc UNEMI*. 2017;10(24):39–45.
11. Guzmán B, Tenorio R, Cruz DL, Espinal C, Alvarado JA, Mollinedo P. Saponins from *Chenopodium quinoa* Willd and *Chenopodium pallidicaule* Aellen as biocontrollers of phytopathogen fungi and hemolysis agents. *Rev Boliv QUÍMICA*. 2015;32(1):8–14.



12. Tenorio R, Terraza E, Alvarez MT, Vila JL, Mollinedo P. Concentrados de saponina de chenopodium quinoa y de caiphora andina: alternativas como biocontroladores de hongos fitopatógenos. *Rev Boliv Química*. 2010;27(1):33–40.
13. Rojas J, García A, López A. Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. *Boletín Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromat*. 2005;4(2):28–32.
14. Montero-Recalde M, Vayas L, Avilés-Esquivel D, Pazmiño P, Erazo-Gutierrez V. Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. *Rev Investig Vet del Perú*. 2018;29(4):1543.
15. Barrientos AJL. Actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) en comparación a la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Estudio in vitro Lima 2017 [Bachiller]. Universidad Privada Norbert Wiener; 2017.
16. Aranibar Tito GM. Efecto inhibitorio de la saponina de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en la flora fúngica natural e inducida de *Penicillium digitatum* en naranjas (*Citrus sinensis*) [Bachiller]. Universidad Nacional del Altiplano; 2017.
17. Morales MA, Gonzáles E, Morales JP. *Fitoterapia, Medicamentos Herbales y Automedicación*. 8th ed. Chateaufeuf R, Benavides M, editors. 2014. 380 p.
18. Betancourt Pulsan A, García Collado M, Fernández Ortega M, Torres Quiala M. *Fitoterapia y apiterapia en la obra de José Martí*. *Rev Inf Científica*. 2015;92(4):945–55.
19. Avello L. M, Cisternas I. *Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile*. *Rev Med Chil*. 2010;138(10):1288–93.
20. Mujica A, Jacobsen S. La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y sus parientes silvestres. *Botánica Económica los Andes Cent*. 2006;42(1):449–57.
21. Abugoch James L. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Composition, chemistry, nutritional, and functional properties. *Adv Food Nutr Res*. 2009;58(09):1–31.
22. Vega Gálvez A, Miranda M, Vergara J, Uribe E, Puente L, Martínez E. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.), an ancient Andean grain: A review. *J Sci Food Agric*. 2010;90(15):2541–7.
23. Zarate Sullca SE. Evaluación del método de extractosólido-líquido de la saponina de 5 cultivares de quinua (*Chenopodium Quinoa* Willd) [Bachiller]. 2016.
24. García-Parra MÁ, Plazas-Leguizamón NZ, Carvajal Rodríguez DC, Ferreira Torrado SC, Parra JD. Descripción de las saponinas en quinua (*Chenopodium quinoa* willd) en relación con el suelo y el clima: Una revisión. *Inf Técnico*. 2018;82(2):241.



25. Cultivos Andinos FAO - introduccion [Internet]. 12 Julio. 2020 [cited 2020 Jul 20]. Available from: http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/prior/segalim/prodali m/prodveg/cdrom/contenido/libro03/cap1.htm
26. Rosas Huaranga G. Evaluación agronómica de diez variedades de quinua (*Chenopodium quinoa willd.*) bajo dos sistemas de cultivo en la Unión - Leticia, Tarma [Internet]. Universidad Nacional Agraria La Molina. Universidad Nacional Agraria La Molina; 2015. Available from: <http://quinua.pe/wp-content/uploads/2013/06/catalogo-FAO.pdf>
27. Chinchay Córdova MN. Adaptabilidad de tres genotipos del cultivo de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) en la rovincia de Lamas [Bachiller]. Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto; 2017.
28. Casas Forero N, Cote Daza S, Moncayo Martínez D, González Blair G. Usos potenciales de la quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) en la industria alimentaria [Internet]. researchgate.net. 2018 [cited 2020 Sep 23]. p. 21. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/324672750>
29. Valencia E, Mac Donald D, Cuyos M, Dueñas R. Extracción, identificación y evaluación de saponinas en *Agaricus Bisporus*. *Biotempo*. 2005;5:31–6.
30. Vicente G. Extracción, cuantificación y purificación de saponinas de semillas de *Chenopodium quinoa willd* provenientes del noroeste argentino [Tesis doctoral]. Universidad Nacional de Córdoba; 2013.
31. Candia Danz L, Olaguivel Quisocala A. Diseño y evaluación de una escarificadora para la extraccion de saponina de la quinua- region Puno [Bachiller]. Universidad Nacional del Altiplano Puno; 2016.
32. Koziol M. Chemical Composition and Nutritional Evaluation of Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*). *Rev Compos y análisis Aliment*. 1992;5(1):35–68.
33. García Colmenares M, Castellanos Corredor MC. Evaluation of the sanitizer effect of a biodegradable extract of ethnobotanical use in boyacá, obtained from the *solanum marginatum* species. *Rev Luna Azul*. 2011 Jun;32(32):10–5.
34. Bonilla H, Carbajal Y, Gonzales M, Vásquez V, López A. Determination of the insecticide activity of the saponine of the quinua (*Chenopodium quinoa*) in larvae of *Drosophila melanogaster*. *Sci Agropecu*. 2019;10(1):39–45.
35. Gestion. Saponina de quinua peruana: un ingrediente de la cosmética. 31-12-2016 [Internet]. 2016 Dec 31 [cited 2020 Sep 18];1. Available from: <https://gestion.pe/tendencias/saponina-quinua-peruana-ingrediente-cosmetica-125566-noticia/>
36. Cerron Mercado F. Efectos de temperatura y tiempo en el desamargado y secado de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) [Bachiller]. Universidad Nacional del Centro del Peru; 2013.



37. Clarke TK. Streptococcus mutans and dental caries. Rev CES Odontol. 2013;26(5997):647–8.
38. Afonso J, García A, Golindano J, Sleiman J, Fernandes A. Efecto antibacteriano de Psidium guajava L y Psidium acutangulum Mart sobre Streptococcus mutans.[Bachiller]. Odontol Sanmarquina. 2018 Sep 18;21(3):209.
39. Mestas Flores EF. Estudio epidemiológico de las enfermedades bucales mas prevalentes en escolares de 6 a 16 años del departamento de puno 2015-2016 [Bachiller]. Universidad Nacional del Altiplano; 2016.
40. Núñez DP, Bacallao LG. Bioquímica de la caries dental. Rev Habanera Ciencias Medicas. 2010;9(2):156–66.
41. Ojeda JC, Oviedo E, Salas L. Streptococcus mutans y caries dental. Rev CES Odontol. 2013;26(1):44–56.
42. Moromi H. Manual de prácticas de microbiología general y estomatológica. Lima, Perú; 2002. 92–101 p.
43. Pedraza Sanchez D, Hernandez Velandia Y. Diseño y valoración de un medio de cultivo selectivo (Sulbac) para Streptococcus mutans [Bachiller]. Pontificia Universidad Javeriana; 2006.
44. Gamboa Jaimes FO. Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del Streptococcus mutans: experiencias de investigación / Microbiological, Phenotypic, and Genotypic Characterization of Streptococcus mutans: Research Experiences. Univ Odontol. 2015;33(71):76.
45. Coronel Alva J. Actividad inhibitoria del crecimiento de la cepa patrón de Streptococcus mutans ATCC®25175TM por acción de aceite esencial de Lippia alba (Pampa orégano)[Bachiller]. Universidad Catolica Los Ángeles Chimbote; 2018.
46. Calisaya Chambi S, Coaquira Mamani N. Efecto inhibitorio del extracto de ajo (Allium Sativum) vs te verde (Camelia Sinensis) sobre streptococcus mutans a las 24 y 48 horas [Bachiller]. Universidad Nacional del Altiplano; 2019.
47. García-Parra M, Plazas-Leguizamón, NZ Carvajal Rodríguez, DC Ferreira Torrado S, Parra J. Descripción de las saponinas en quinua (Chenopodium quinoa willd) en relación con el suelo y el clima: Una revisión. Inf Técnico. 2018;82(2):241.
48. Maquera Quispe Y, Monroy Ticona S. Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de Caléndula officinalis L. en Streptococcus mutans, Puno-2019 [Bachiller]. Universidad Nacional del Altiplano; 2019.
49. Liébana Ureña J. Microbiología oral. 2nd ed. Madrid; 2002. 677 p.
50. Condori Pari K, Apaza Mamani M. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico e infusión de tiquil tiquil (Aloysia triphylla) vs manzanilla (Matricaria chamomilla)



- sobre las cepas de *Prevotella intermedia* Puno 2018 [Bachiller]. Universidad Nacional del Altiplano; 2018.
51. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *Food Microbiol.* 2004;94(3):223–53.
 52. Bollela V, Sato D, Fonseca B. McFarland nephelometer as a simple method to estimate the sensitivity of the polymerase chain reaction using *Mycobacterium tuberculosis* as a research tool. *Brazilian J Med Biol Res.* 1999;32(9):1073–6.
 53. Rivas Morales C, Oranday Cárdenas M, Verde Star M. Investigación en plantas de importancia médica. Catalina Rivas-Morales, María Azucena Oranday-Cárdenas MJV-S, editor. Mexico: Omnia Science; 2016. 450 p.
 54. Diaz Puentes LN. Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. *Rev Estud Transdiscipl.* 2009;1(2):32–55.
 55. Ramirez L, Castaño D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Sci Tech.* 2009;(42):263–8.
 56. Luis Barrientos AJ. Actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) en comparación a la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Estudio in vitro. Lima 2017 [Bachiller]. Universidad privada Norbert Wiener; 2017.

ANEXOS

ANEXO A

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE LA SAPONINA (*Chenopodium quinoa willd. - quinoa*)

SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans*

Métodos: Método modificado de pozos en agar y método de Kirby Bauer

Tratamiento: Extracto avisco de saponina

Medio de cultivo: Agar Mueller Hinton

Cepas de estudio: *Streptococcus mutans*

Tiempo	Repeticion	EXTRACTO DE SAPONINA CON EL MÉTODO POZOS EN AGAR				CONTROL		EXTRACTO DE SAPONINA CON EL MÉTODO DE KIRBY BAUER				CONTROL	
		25%	50%	75%	100%	+	-	25%	50%	75%	100%	+	-
		CONTROL A LAS 24 HORAS											
1	10.8	11.1	12.5	12.7	16.8	0	9.6	10.9	11.9	13.1	16.5	0	
2	10.9	11.2	12.6	12.8	16.5	0	9.9	10.8	11.8	13.2	16.2	0	
3	10.6	11.9	12.3	12.5	17.2	0	9.9	10.6	11.7	13	15.9	0	
4	10.7	11.7	13.3	13.5	16.9	0	9.7	10.5	11.9	13.2	16.3	0	
5	10.8	11.3	12.7	12.9	16.5	0	9.8	10.8	11.6	13.1	16.1	0	
6	10.9	11.2	12.6	12.8	16.9	0	9.9	10.7	11.9	13.3	16.1	0	
7	10.9	11.7	12.5	12.7	16.7	0	9.6	10.4	11.3	12.7	16.3	0	
8	10.6	11.9	12.3	12.5	16.8	0	9.5	10.5	11.6	12.5	15.9	0	
9	10.5	11.3	12.7	12.9	16.7	0	9.3	10.3	11.7	12.6	16.2	0	
10	10.6	11.9	12.3	12.5	16.5	0	9.2	10.4	11.8	12.5	16.4	0	
11	10.5	11.9	13.2	13.4	16.6	0	9.4	10.7	11.7	12.9	16.4	0	
12	10.3	11.6	13	13.2	16.8	0	9.5	10.5	11.9	12.2	16.2	0	
13	10.8	11.5	12.9	13.1	16.6	0	10.2	10.5	11.9	12.9	16.1	0	
14	10.9	11.9	13.3	13.5	16.7	0	10.3	10.9	11.3	12.7	16.7	0	
15	10.6	11.8	13.4	13.6	16.5	0	10.1	10.8	11.2	12.8	16.2	0	
16	10.7	11.7	13.2	13.4	16.5	0	10.3	10.7	11.8	12.9	16.4	0	
17	10.9	11.6	13	13.2	16.8	0	10.2	10.8	11.6	12.7	16.5	0	
18	10.8	11.5	12.9	13.1	16.7	0	10.1	10.9	11.7	12.6	16.8	0	
CONTROL A LAS 48 HORAS													
1	11.4	12.2	13.4	14.1	16.9	0	10.9	11.8	12.7	13.9	16.6	0	
2	11.6	12.4	13.6	14.2	16.6	0	10.8	11.8	12.8	13.8	16.3	0	
3	11.7	12.5	13.7	14.3	17.2	0	10.9	11.6	12.6	13.7	16.1	0	
4	11.5	12.3	13.5	14.2	17.3	0	10.8	11.7	12.9	13.6	16.4	0	
5	11.7	12.5	13.4	14.5	16.6	0	10.7	11.5	12.8	13.8	16.2	0	
6	11.5	12.3	13.3	14.6	17.1	0	10.8	11.9	12.9	13.6	16.2	0	
7	11.8	12.6	13.2	14.6	16.8	0	11.1	12.1	12.5	13.5	16.4	0	
8	11.5	12.3	13.1	13.8	16.9	0	11.2	12.3	12.4	13.4	16.3	0	
9	11.4	12.2	13.4	13.7	16.8	0	11.1	12.2	12.5	13.5	16.3	0	
10	11.6	12.4	13.2	13.9	16.6	0	11.4	12.1	12.6	13.5	16.5	0	
11	11.7	12.5	13.9	13.6	16.7	0	11.5	12.3	12.7	13.2	16.5	0	
12	11.8	12.6	13.8	13.8	16.9	0	11.3	12.1	12.4	13.8	16.3	0	
13	11.6	12.4	13.6	14.3	16.7	0	10.9	11.9	12.5	13.9	16.2	0	
14	11.5	12.3	13.5	14.2	16.8	0	10.8	11.8	12.8	13.8	16.8	0	
15	11.6	12.4	13.6	14.4	16.6	0	10.7	11.7	12.7	13.9	16.3	0	
16	11.8	12.6	13.8	14.5	16.6	0	10.9	11.6	12.9	13.8	16.5	0	
17	11.7	12.5	13.7	14.4	16.9	0	10.8	11.8	12.8	13.7	16.6	0	
18	11.5	12.4	13.6	14.3	16.8	0	10.7	11.7	12.7	13.8	16.1	0	



ANEXO B

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

EXTRACTO DE SAPONINA EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% CON EL MÉTODO DE KIRBY BAUER A LAS 24 HORAS

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
100%	18	12.80	0.31	12.65	12.95	175.92	<0.0001
75%	18	11.68	0.22	11.57	11.79	225.01	<0.0001
50%	18	10.65	0.19	10.55	10.75	235.65	<0.0001
25%	18	9.80	0.35	9.63	9.97	119.44	<0.0001
CONTROL POSITIVO	18	16.29	0.24	16.17	16.41	285.26	<0.0001

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	90	0.99	0.99	2.19

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	458.97	4	114.74	1591.64	<0.0001
APLICACION	458.97	4	114.74	1591.64	<0.0001
Error	6.13	85	0.07		
Total	465.10	89			



Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.24945

Error: 0.0721 gl: 85

APLICACION	Medias	n	E.E.	
CONTROL POSITIVO	16.29	18	0.06	A
SAPONINA 100%	12.80	18	0.06	B
SAPONINA 75%	11.68	18	0.06	C
SAPONINA 50%	10.65	18	0.06	D
SAPONINA 25%	9.80	18	0.06	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

EXTRACTO DE SAPONINA EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% CON EL MÉTODO DE KIRBY BAUER A LAS 48 HORAS

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
100%	18	13.67	0.21	13.56	13.77	274.23	<0.0001
75%	18	12.68	0.17	12.59	12.76	323.10	<0.0001
50%	18	11.89	0.24	11.77	12.01	206.15	<0.0001
25%	18	10.96	0.25	10.84	11.08	187.77	<0.0001
CONTROL POSITIVO	18	16.37	0.19	16.27	16.46	369.61	<0.0001

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	90	0.99	0.99	1.63

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	309.80	4	77.45	1691.65	<0.0001
APLICACION	309.80	4	77.45	1691.65	<0.0001
Error	3.89	85	0.05		
Total	313.70	89			



Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.19879

Error: 0.0458 gl: 85

APLICACION	Medias	n	E.E.	
CONTROL POSITIVO	16.37	18	0.05	A
SAPONINA 100%	13.67	18	0.05	B
SAPONINA 75%	12.68	18	0.05	C
SAPONINA 50%	11.89	18	0.05	D
SAPONINA 25%	10.96	18	0.05	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

EXTRACTO DE SAPONINA EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% CON EL MÉTODO DE KIRBY BAUER A LAS 24 Y 48 HORAS

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
25% 24H K	18	9.80	0.35	9.63	9.97	119.44	<0.0001
50% 24H K	18	10.65	0.19	10.55	10.75	235.65	<0.0001
75% 24H K	18	11.68	0.22	11.57	11.79	225.01	<0.0001
100% 24H K	18	12.80	0.31	12.65	12.95	175.92	<0.0001
25% 48H K	18	10.96	0.25	10.84	11.08	187.77	<0.0001
50% 48H K	18	11.89	0.24	11.77	12.01	206.15	<0.0001
75% 48H K	18	12.68	0.17	12.59	12.76	323.10	<0.0001
100% 48h K	18	13.67	0.21	13.56	13.77	274.23	<0.0001
CONTROL POSITIVO	18	16.82	0.21	16.72	16.93	339.54	<0.0001

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	162	0.99	0.98	1.99



Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	612.33	8	76.54	1276.70	<0.0001
EFECTO	612.33	8	76.54	1276.70	<0.0001
Error	9.17	153	0.06		
Total	621.51	161			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.0600 gl: 153

EFECTO	Medias	n	E.E.	
CONTROL +	16.82	18	0.06	A
100% 48H	13.67	18	0.06	B
100% 24H	12.80	18	0.06	C
75% 48H	12.68	18	0.06	C
50% 48H	11.89	18	0.06	D
75% 24H	11.68	18	0.06	E
25% 48H	10.96	18	0.06	F
50% 24H	10.65	18	0.06	G
25% 24H	9.80	18	0.06	H

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

EXTRACTO DE SAPONINA EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% CON EL MÉTODO DE POZOS EN AGAR MODIFICADO A LAS 24 HORAS

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
100%	18	13.02	0.37	12.83	13.20	149.98	<0.0001
75%	18	12.82	0.37	12.63	13.00	147.67	<0.0001
50%	18	11.59	0.27	11.45	11.72	182.21	<0.0001
25%	18	10.68	0.18	10.59	10.77	248.62	<0.0001
CONTROL POSITIVO	18	16.71	0.19	16.61	16.80	380.63	<0.0001



Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	90	0.98	0.98	2.21

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	380.09	4	95.02	1153.48	<0.0001
APLICACION	380.09	4	95.02	1153.48	<0.0001
Error	7.00	85	0.08		
Total	387.09	89			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.26666

Error: 0.0824 gl: 85

APLICACION	Medias	n	E.E.	
CONTROL POSITIVO	16.71	18	0.07	A
SAPONINA 100%	13.02	18	0.07	B
SAPONINA 75%	12.82	18	0.07	B
SAPONINA 50%	11.59	18	0.07	C
SAPONINA 25%	10.68	18	0.07	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

EXTRACTO DE SAPONINA EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% CON EL MÉTODO DE POZOS EN AGAR MODIFICADOS A LAS 48 HORAS

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
100%	18	14.19	0.31	14.03	14.34	193.95	<0.0001
75%	18	13.52	0.23	13.40	13.63	254.23	<0.0001
50%	18	12.41	0.13	12.35	12.47	411.93	<0.0001
25%	18	11.61	0.13	11.54	11.67	377.35	<0.0001
CONTROL POSITIVO	18	16.84	0.20	16.74	16.94	351.37	<0.0001



Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	90	0.99	0.99	1.54

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	291.10	4	72.78	1639.63	<0.0001
APLICACION	291.10	4	72.78	1639.63	<0.0001
Error	3.77	85	0.04		
Total	294.88	89			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.19573

Error: 0.0444 gl: 85

APLICACION	Medias	n	E.E.	
CONTROL POSITIVO	16.84	18	0.05	A
SAPONINA 100%	14.19	18	0.05	B
SAPONINA 75%	13.52	18	0.05	C
SAPONINA 50%	12.41	18	0.05	D
SAPONINA 25%	11.61	18	0.05	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

EXTRACTO DE SAPONINA EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% CON EL MÉTODO DE POZOS EN AGAR MODIFICADOS A LAS 24 Y 48 HORAS

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
25% 24H P	18	10.68	0.18	10.59	10.77	248.62	<0.0001
50% 24H P	18	11.59	0.27	11.45	11.72	182.21	<0.0001
75% 24H P	18	12.82	0.37	12.63	13.00	147.67	<0.0001
100% 24H P	18	13.02	0.37	12.83	13.20	149.98	<0.0001
25% 48H P	18	11.61	0.13	11.54	11.67	377.35	<0.0001
50% 48H P	18	12.41	0.13	12.35	12.47	411.93	<0.0001
75% 48H P	18	13.52	0.23	13.40	13.63	254.23	<0.0001
100% 48h P	18	14.19	0.31	14.03	14.34	193.95	<0.0001



Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	162	0.98	0.98	2.00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	467.27	8	58.41	873.23	<0.0001
EFECTO	467.27	8	58.41	873.23	<0.0001
Error	10.23	153	0.07		
Total	477.51	161			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.0669 gl: 153

EFECTO	Medias	n	E.E.	
CONTROL +	16.82	18	0.06	A
100% 48H	14.19	18	0.06	B
75% 48H	13.52	18	0.06	C
100% 24H	13.02	18	0.06	D
75% 24H	12.82	18	0.06	E
50% 48H	12.41	18	0.06	F
25% 48H	11.61	18	0.06	G
50% 24H	11.59	18	0.06	G
25% 24H	10.68	18	0.06	H

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)



EXTRACTO DE SAPONINA EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% A LAS 24 HORAS CON LOS MÉTODOS DE: POZOS EN AGAR MODIFICADO Y EL MÉTODO DE KIRBY BAUER

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	180	0.99	0.98	2.21

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	862.25	9	95.81	1240.43	<0.0001
APLICACION DE LA SAPONINA	862.25	9	95.81	1240.43	<0.0001
Error	13.13	170	0.08		
Total	875.38	179			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.0772 gl: 170

APLICACION DE LA SAPONINA	Medias	n	E.E.	
C+ POZO 24H	16.71	18	0.07	A
C+ KIRBY 24H	16.29	18	0.07	B
100% POZO 24H	13.02	18	0.07	C
75% POZO 24H	12.82	18	0.07	D
100% KIRBY 24H	12.80	18	0.07	D
75% KIRBY 24H	11.68	18	0.07	E
50% POZO 24H	11.59	18	0.07	E
25% POZOS 24H	10.68	18	0.07	F
50% KIRBY 24H	10.65	18	0.07	F
25% KIRBY 24H	9.80	18	0.07	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)



EXTRACTO DE SAPONINA EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% A LAS 48 HORAS CON LOS MÉTODOS DE: POZOS EN AGAR MODIFICADOS Y EL MÉTODO DE KIRBY BAUER

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	180	0.99	0.99	1.69

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	614.04	9	68.23	1329.06	<0.0001
APLICACION DE LA SAPONINA ..	614.04	9	68.23	1329.06	<0.0001
Error	8.73	170	0.05		
Total	622.77	179			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.0513 gl: 170

APLICACION DE LA SAPONINA ..	Medias	n	E.E.	
C+ POZO 48H	16.82	18	0.05	A
C+ KIRBY 48H	16.37	18	0.05	B
100% POZO 48H	14.19	18	0.05	C
100% KIRBY 48H	13.67	18	0.05	D
75% POZO 48H	13.52	18	0.05	E
75% KIRBY 48H	12.68	18	0.05	F
50% POZO 48H	12.32	21	0.05	G
50% KIRBY 48H	11.91	15	0.06	H
25% POZOS 48H	11.61	18	0.05	I
25% KIRBY 48H	10.96	18	0.05	J

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)



ANEXO C

"AÑO DE LA UNIVERSALIZACION DE LA SALUD"

Solicito: permiso para ejecutar mi proyecto de investigación

SEÑOR DECANO DE LA FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

Dr. JULIAN SALAS PORTOCARRERO

YO, CANAHUIRE MAMANI RUTH GLORIA, identificada con DNI N° 47465141, con domicilio en JR. Ciudad de dios A/N de la ciudad de San Miguel y NORMA GLADYS JOVE LEON, identificada con DNI N° 70101998, con domicilio en JR. Emancipación N° 545 de la ciudad de Juliaca, egresadas de la Escuela profesional de **Odontología**, presento y expongo.

Que nos encontramos en proceso de ejecución de nuestro proyecto de investigación denominado " EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE LA SAPONINA DE QUINOA (CHENOPODIUM QUINOA WILLD-QUINOA) SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS" el cual para su realización implica utilizar laboratorio para los procesos microbiológicos razón por la cual recurrimos a su digna autoridad para solicitar la utilización de los laboratorios de microbiología y parasitología de la facultad de Medicina Humana que usted dirige y así poder culminar con la ejecución de nuestro proyecto de investigación requisito para el optar el título profesional de Cirujano Dentista.

POR LO EXPUESTO:

Rogamos a usted acceder a nuestra solicitud.



Puno, 15 de Enero del 2020

CANAHUIRE MAMANI RUTH GLORIA

47465141

JOVE LEON NORMA GLADYS

70101998



ANEXO D

CONSTANCIAS



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AGRONÓMICA
LABORATORIO DE AGUAS Y SUELOS
RESULTADO DE ANÁLISIS



ASUNTO: ANALISIS FISICO MUESTRAS DE QUINOA (*Chenopodium quinoa willd*)

PROCEDENCIA : DISTRITO DE CABANILLAS – PROV. SAN ROMAN DPTO PUNO
INTERESADO : Bach. NORMA GLADYS JOVE LEON y RUTH GLORIA CANAHUIRE
MAMANI
PROYECTO TITULO : "EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE LA SAPONINA (*Chenopodium quinoa willd - quinoa*) SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans*"
MOTIVO : ANALISIS DE SAPONINA
MUESTREO : 06/01/2020
ANALISIS : 08/01/2020

PROCESAMIENTO DE EXTRACTO ETANOLICO DE SAPONINA

Se realizó el tamizado de la muestra, seguido de la colocación de la muestra en el recipiente de color ámbar, agregándole etanol al 70% la duración de la extracción fue de 24 horas en refrigeración a una relación muestra/solvente de 1/9. Luego se obtuvo el extracto.

RESULTADOS:

CONCENTRACION DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS

Extracto	Agua destilada	Concentración
2ml	0ml	100%
2ml	1ml	75%
2ml	2ml	50%
2ml	3ml	25%

Puno, 26 de agosto del 2020



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGRONOMICA
LABORATORIO DE AGUAS Y SUELOS



CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE LABORATORISTA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS DE AGUAS Y SUELOS DE LA UNA – PUNO.

HACE CONSTAR:

Que la Bachilleres NORMA GLADYS JOVE LEON Y RUTH GLORIA CANAHUIRE MAMANI, egresadas de la escuela profesional de Odontología de la Universidad Nacional Del Altiplano, ha realizado el EXTRACTO ETANÓLICO POR MACERACIÓN DE SAPONINA (*Chenopodium quinoa will – quinoa*), para el proyecto de tesis título “EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE LA SAPONINA” (*Chenopodium quinoa will – quinoa*) SOBRE CEPAS DE “*Streptococcus mutans*”, el cual fue realizado en el mes de enero del 2020.

Se emite la presente constancia a solicitud de las interesadas para los fines que se estime por conveniente.

Puno, 26 de agosto del 2020



CERTIFICADO DE LA CEPA BACTERIANA

EL QUE SUSCRIBE:

Certifica que la pureza de *Streptococcus mutans* se ha obtenido tomando en cuenta el siguiente procedimiento:

1. El medio de cultivo que se utilizó para el aislamiento es el agar sangre para observar la actividad hemolítica, y los complejos antígeno anticuerpo.
2. Características ambientales.
 - a. Mesofilo, crece a temperaturas entre 18 a 40 °C.
 - b. Acidofilo, vive en medio de pH bajo.
 - c. Anaerobio facultativo
3. Para la identificación del *Streptococcus mutans*, se tomó en cuenta los criterios fenotípicos.
 - a. Morfología macroscópica, borde irregular, elevación cóncava, color blanquecino, forma irregular.
 - b. Morfología microscópica, bacteria coco gram positivo, dispuesta en cadena
 - c. Resistencia o sensibilidad a los antibióticos:
Resistente a la amoxicilina, Sensible a los betalactámicos
 - d. Propiedades bioquímicas, oxidasa y catalasa negativa, productora de ácido láctico, fermentador de glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina.

Nota: para la obtención de la cepa pura de *streptococos mutans* se siguió los métodos estándar propuesto por el Instituto Nacional de Salud (INS)

LIC. BALBINO LORGIO PALACIOS FRISANCHO



CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE, ENCARGADO DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

HACE CONSTAR:

Que, las Señoritas. NORMA GLADYS JOVE LEON, identificado con DNI. 70101998 y Código de matrícula N° 111842 y RUTH GLORIA CANAHUIRE MAMANI, con DNI. 47465141 y Código de matrícula N° 111828, estudiantes de la Escuela Profesional de Odontología Facultad de Ciencias de la Salud de la UNA- PUNO, quienes ha realizado su Proyecto de Tesis titulado: "EFECTO INHIBITORIO *IN VITRO* DE LA SAPONINA (*Chenopodium quinoa willd – quinoa*) SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans*", en el Laboratorio de Microbiología de esta Facultad, en las fecha de diciembre del 2019 15 de marzo del 2020.

Se expide la presente a solicitud de la interesada, para los fines que estime conveniente.

Puno, 25 de agosto del 2020


LIC. BALBINO LORGIO PALACIOS FRISANCHO

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Somos bachilleres de odontología de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Nacional del Altiplano Puno y estamos llevando a cabo un estudio sobre: **"EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE LA SAPONINA (*Chenopodium quinoa willd*) quinoa SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans*"**. El objetivo es determinar la efectividad in vitro de la saponina obtenida de quinua sobre las cepas de *Streptococcus mutans* que colonizan la cavidad oral. Solicito su autorización para que participe voluntariamente en este estudio.

- El procedimiento consiste en obtener muestras de cultivo dental, el proceso será confidencial.
- El procedimiento no conlleva ningún tipo de riesgo.
- No recibirá ninguna compensación por participar.
- Usted tiene el derecho de retirar su consentimiento para la participación en cualquier momento, sin ninguna consecuencia desfavorable para ambos en caso de no aceptar la invitación.

He leído el procedimiento descrito arriba. Las investigadoras me han explicado el estudio y contestado mis preguntas. Yo Jove León Norma y Canahuire Mamani Ruth voluntariamente doy mi consentimiento para que se me realice el procedimiento y sea participe de la investigación de Jove León Norma y Canahuire Mamani Ruth.


Firma



Huella digital

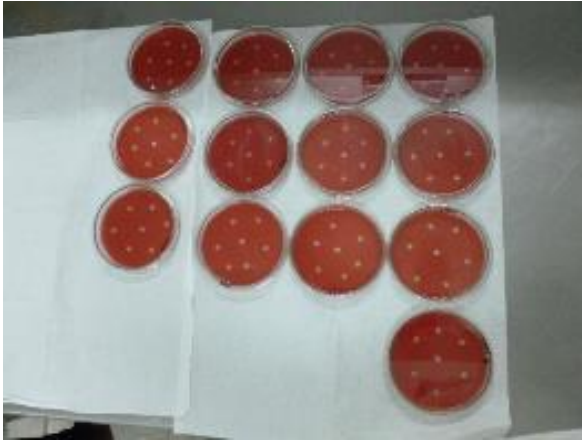
ANEXO E

GALERIA FOTOGRAFICA

Preparación de agar, cultivo y aplicación de tratamientos.







Medición de halos de inhibición

