

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
PROGRAMA DE ESTUDIO DE FARMACIA Y
BIOQUIMICA



Efecto Antimicrobiano de enjuague bucal a base de *Eucalyptus globulus* L. (eucalipto) y *Syzygium aromaticum* L. (Clavo de olor).

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Autores

Angulo Gervacio, Martir Marina

Salazar Linares, José Abelino

Asesor

Cacha Salazar, Carlos Esteban

(Código ORCID: 0000-0002-3169-5891)

Nuevo Chimbote - Perú

2023

INDICE DE CONTENIDOS

INDICE DE TABLAS	ii
PALABRA CLAVE	iii
TITULO	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT.....	vi
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	15
Tipo y Diseño de investigación	15
Población - Muestra y Muestreo	16
Técnicas e instrumentos de investigación.....	17
Procesamiento y análisis de la información.....	26
RESULTADOS	27
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN	33
CONCLUSIONES	38
RECOMENDACIONES.....	39
ANEXOS	45

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Parámetros de control de calidad de la materia prima	27
	Parámetros de calidad de los extractos de <i>Syzygium aromaticum</i> L. (Clavo de olor) y <i>Eucalyptus globulus</i> L. (eucalipto)	28
Tabla 2	Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos de <i>Syzygium aromaticum</i> L. (clavo de olor) y <i>Eucalyptus globulus</i> L. (eucalipto)	29
Tabla 3	Formula del enjuague bucal	30
Tabla 4	Características organolépticas y físico químicas del enjuague bucal	31
Tabla 5	Resultados del control microbiológico del enjuague bucal	32
Tabla 6		

1 Palabras Clave

Tema	Enjuague bucal, Eucaliptus globulus, Syzygium aromaticum.
Especialidad	Tecnología cosmética.

Keywords

Subject	Mouthwash, Eucaliptus globulus, Syzygium aromaticum.
Specialty	Cosmetic technology.

Líneas de investigación

Línea de Investigación	Recursos Naturales Terapéuticos y Fitoquímica.
Área	Ciencias Médicas y de Salud
Subárea	Medicina Básica.
Disciplina	Farmacología y Farmacia.

2 Título:

Efecto Antimicrobiano de enjuague bucal a base de *Eucalyptus globulus* L. (eucalipto) y *Syzygium aromaticum* L. (Clavo de olor).

3 Resumen

El objetivo de este estudio era crear un enjuague oral con propiedades antimicrobianas como alternativa a los productos comerciales disponibles actualmente. Este enjuague se creó utilizando una combinación de glicerina, ácido láurico y extractos de eucalipto y clavo. El estudio que se realizó fue de tipo de investigación aplicada, por lo que se podrá evaluar la presencia o ausencia de metabolitos secundarios con actividad terapéutica, como alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, triterpenos, esteroides y ácidos tánicos. Se probaron un total de diez formulaciones hasta obtener el producto ideal, eligiéndose la que cumpla los criterios de control de calidad. Esta formulación se sometió a las pruebas físicas y químicas adecuadas, como la medición del pH de acuerdo con las necesidades de la cavidad bucal, para garantizar que el producto es apto para el uso humano. Como resultado, se obtuvo el desarrollo del enjuague dental con actividad antimicrobiana basado en estudios previos. Este enjuague ayudará a combatir y prevenir las caries, así como a reducir la halitosis y la gingivitis.

Palabras clave: Eucalipto (*Eucalyptus globulos L.*) y Clavo de olor (*Syzygium aromaticum L.*), Halitosis, Antimicrobiano, Enjuague bucal, Cosmético, Extractos orgánicos.

4 **Abstract:**

The objective of this study was to create an oral rinse with antimicrobial properties as an alternative to currently available commercial products. This rinse was created using a combination of glycerin, lauric acid and extracts of eucalyptus and clove. The study to be carried out will be of the applied research type, so it will be possible to evaluate the presence or absence of secondary metabolites with therapeutic activity, such as alkaloids, flavonoids, phenolic compounds, triterpenes, steroids and tannic acids. A total of ten formulations will be tested until the ideal product is obtained, and the one that meets the quality control criteria will be chosen. This formulation will also be subjected to appropriate physical and chemical tests, such as pH measurement according to the needs of the oral cavity, to ensure that the product is suitable for human use. As a result, the development of a dental filling with antimicrobial activity based on previous studies is planned. This filling will help to combat and prevent caries, as well as reduce halitosis and gingivitis.

Keywords: Eucalyptus (*Eucalyptus globulos L.*) and Cloves (*Syzygium aromaticum L.*), Halitosis, Antimicrobial, Mouthwash, Cosmetic, Organic extracts.

5 Introducción

Antecedentes y Fundamentación Científica

Somarriba Rocha & Santana Espinoza, (2020) los investigadores estudiaron los efectos de un enjuague oral a base de aloe vera en la gingivitis de las embarazadas. Para ello, se llevó a cabo un estudio longitudinal, prospectivo, cuasiexperimental y de enfoque mixto que incluyó a 70 pacientes embarazadas con gingivitis. Para medir la cantidad de placa e inflamación gingival en los tratamientos con Aloe Vera y placebo, se utilizaron los Indicadores de Silness y Løe para la placa y la inflamación gingival de 1964 y 1967, respectivamente, elaborados en el Departamento de Química Farmacéutica de la UNAN-MANAGUA. Los resultados mostraron que, en comparación con el grupo de control tratado con placebo, el 90% de los pacientes presentaba una encía normal tras tres semanas de uso, el 10% tenía una inflamación leve y el 96% de los pacientes no tenía infección cutánea bacteriana. Sólo el 3% de los pacientes presentaron una infección cutánea bacteriana completa. Como resultado, llegaron a la conclusión de que los efectos del enjuague bucal elaborado con Aloe vera son significativos en el contexto de esta investigación y establecieron que reduce la acumulación de placa y la inflamación gingival en pacientes a las que se les ha diagnosticado gingivitis durante el embarazo.

Calle Ortiz, (2020) Según su tesis sobre los factores que influyen en la halitosis y cómo se trata este problema, la halitosis es una afección dental o sistémica que afecta a la autoestima debido a un olor desagradable del aliento, que hace incómodo conversar o relacionarse socialmente con los demás. La halitosis genuina, la pseudohalitosis y la halitofobia se diferencian por sus causas multifactoriales, que deben comprenderse antes de decidir un tratamiento que dependerá del tipo de halitosis que presente el paciente. Las causas de la halitosis incluyen factores intrabucales, extrabucales y otros,

siendo el factor intrabucal el responsable del 90% de las causas de la enfermedad. Su investigación pretendía identificar los factores que están relacionados y el enfoque terapéutico de la halitosis. Tras revisar 30 artículos de los últimos cinco años utilizando la metodología inductivo-deductiva, el autor descubrió que el 33% de los factores que contribuían a los problemas dentales estaban causados por la saburra lingual, el 27% por una higiene bucal deficiente, el 20% por la periodontitis, el 10% por la caries dental y el 10% por la gingivitis.

Tigselema Mena , (2020) en su tesis sobre los enjuagues bucales en el control de la placa bacteriana de los dientes, realizada con el objetivo de demostrar como contribuyen los colutorios para controlar la placa bacteriana mediante un estudio documental, transversal, descriptivo, cualitativo, no experimental, de actualidad científica dentro de los últimos cinco años. Los resultados: demostraron que los colutorios de componentes naturales, tienen buen funcionamiento para tratar la placa dental, proporcionando un efecto antibacterial, con la finalidad de mantener la asepsia bucal sin daños en las estructuras dentales y sin el uso de químicos tóxicos. Todo con el aval de estudios científicos de que los enjuagues con colutorios desempeñan un papel clave y de gran valor demostrativo como cooperante de los métodos mecánicos para la prevención y tratamiento de las patologías periodontales.

James et al., (2018) Las patologías de la cavidad oral están situadas dentro de las patologías con mayor prevalencia a nivel mundial, las cuales tienen peligrosas cargas tanto sanitarias y económicas, disminuyendo así grandes proporciones la calidad de vida de las personas que se ven afectadas. La patología de la cavidad oral más prevalente es la caries teniendo una incidencia de 3-47 mil millones de personas en el mundo con esta afección, seguido por la enfermedad periodontal, pérdida de órgano dental, y cáncer en labios y boca. Así mismo según, el Consejo General de Dentistas (2020), una

mala salud oral corre el riesgo de originar problemas en otras áreas de nuestro cuerpo en consecuencia empeorar el pronóstico en caso de sufrir la COVID-19.

Por el contrario, Lim et al. (2020) reconoce en su estudio que las políticas de salud pública de todas las naciones adolecen de una deficiencia, con especial atención a la salud bucal. Como resultado, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) menciona en su respuesta al informe oficial de la Asociación Americana para la Salud Pública (AESP) que las políticas de salud pública protegen y promueven la salud de los individuos y las comunidades donde interactúan. Consideremos el hecho de que las políticas públicas evitan que las personas se enfermen o sufran accidentes cuando un médico proporciona tratamiento a quienes ya padecen una enfermedad. (Guo et al., 2001).

En nuestro país, Montero Surichaqui (2021) realizó un estudio observacional, experimental y longitudinal para evaluar la eficacia de tres productos de cuidado bucal disponibles comercialmente en la reducción del nivel de halitosis en pacientes que recibían tratamiento de ortodoncia en una clínica dental privada. Se trabajó con 75 pacientes divididos en tres grupos aleatorios y se asignó una única colección a cada grupo. Antes de administrar el enjuague bucal y luego 30 y 1 horas después, se midieron los niveles de halitosis utilizando un halímetro. Según los resultados, los tres medicamentos utilizados consiguieron reducir los niveles de halitosis en pacientes con ortodoncia; sin embargo, el medicamento Colutorio Halita fue el más eficaz, ya que el 32% de los pacientes seguía experimentando una halitosis fuerte y muy fuerte después de 30 y 60 minutos. Tras el Colutorio Colgate Plax Menta Suave, se observó un aumento del 12% después de 30 y 60 minutos. Otro 48% de los pacientes presentaba un nivel fuerte y muy fuerte. En el análisis final, se observó que el 48% de los pacientes presentaron niveles fuertes y muy fuertes de cuidado con Listerine, seguido por el 20% después de 30 minutos, y el 32%

después de 60 minutos. Se determinó que los tres enjuagues bucales utilizados en el estudio son efectivos para reducir los niveles de halitosis en pacientes con ortodoncia en la clínica odontológica especializada Expert Dent, Lima 2021.

Yauri Ttito, (2021), evaluó la concentración de flúor y el valor de pH en los enjuagues bucales comercializados en la ciudad del Cusco en el año 2021. Fue un estudio cuantitativo, descriptivo, transversal y observacional con una muestra de 35 enjuague Colgate, Oral B, Listerine y Dento, elegidos de acuerdo a los criterios de inclusión que se vendían en la ciudad del Cusco. Se dividieron en 7 grupos, cada uno compuesto por 5 colutorios. Se utilizó un pHmetro para medir el pH y con el espectrómetro UV-VIS se realizó la medida del fluoruro de sodio, tanto a temperatura ambiente como a 37 grados centígrados. El programa SPSS se empleó para validar los cuadros estadísticos, la prueba estadística fue T de Student y Wilcoxon. Los resultados muestran que las concentraciones de flúor fluctúan entre 220 y 226 ppm de flúor. En cuanto al contenido de flúor de la muestra a temperatura ambiente, las mayores variaciones resultaron ser positivas para la marca Oral B, con una diferencia en la concentración media de flúor de 5 ppm ($p=0,167$), y negativas para Listerine, con una variación de -33 ppm, ninguna de ellas con valores estadísticamente significativos. En cuanto a la concentración a 37°C, los Colutorios Colgate obtuvieron una variación negativa, destacando Colgate Plax Ice con -9 ppm de flúor. Además, la marca Listerine registró una variación negativa de 220 ppm a 185 ppm. Por el contrario, al comparar el pH a temperatura ambiente y a 37°C, las marcas Colgate, Dento y Oral B experimentaron una variación positiva, mientras que la marca Listerine obtuvo una variación negativa de 4,4 a 4,3. El autor llegó a la conclusión de que todos los enjuagues orales con flúor eran variables, y que Dento y Oral B tenían las concentraciones de flúor más altas según la prueba, mientras que Listerine tenía las concentraciones más bajas. También observó que la mayor variación en la concentración de flúor se producía a una temperatura de 37°C. Colgate

Plax Ice Glacial tuvo el mayor cambio de pH positivo a temperatura ambiente con una temperatura de 37°C.

Pérez Cacho, (2018) en su investigación sobre la evaluación del impacto de dos enjuagues bucales sobre la halitosis en estudiantes de odontología, destaca que la halitosis es el olor procedente de la boca que suele estar causado por bacterias intraorales que descomponen la materia orgánica de los restos de comida, lo que provoca el almacenamiento de placa bacteriana en el dorso de la lengua como consecuencia de una higiene inadecuada. Si se descubre un problema dental, es esencial buscar atención médica inmediata para iniciar el tratamiento adecuado. Según la información, el mercado ofrece actualmente una variedad de colutorios que se utilizan para tratar la halitosis. En consecuencia, nos propusimos evaluar rápidamente el impacto de dos colutorios en un grupo de 30 estudiantes de la Facultad de Odontología Federico Villareal. El procedimiento se repitió tres veces con una frecuencia de 12 horas. La evaluación se realizó mediante análisis estadístico y se presentaron los resultados. Según nuestra información, el mercado ofrece actualmente una gran variedad de productos utilizados para tratar la halitosis. Por ello, propusimos realizar una evaluación rápida de los efectos de dos colonoscopias en un grupo de 30 estudiantes de la Facultad de Odontología Federico Villareal. El proceso se repitió tres veces con un intervalo de 12 horas entre cada repetición. La evaluación se completó mediante análisis estadístico ANOVA y se presentaron los resultados. En este estudio, se determina que el uso de enjuagues en cada grupo tiene el efecto de reducir el grado de halitosis demostrando sólo diferencias marginales.

Marco teórico.

Los colutorios son soluciones acuosas que suelen aplicarse sobre los dientes, las mucosas y la faringe para ejercer una acción antiséptica, astringente o calmante. Suelen utilizarse para la higiene tópica sin tragarlos, manteniéndolos pasivamente en la boca o haciéndolos circular por la boca

mediante contracción muscular y/o movimientos de la cabeza, ya sea haciendo gárgaras, en las que la cabeza se inclina hacia atrás y el líquido burbujea en la parte posterior de la boca (Abijeth & Kanthaswamy 2017).

Su uso, como medicamentos y antisépticos, se remonta a varios siglos A.C., como en las culturas asiáticas (India, China, etc.). Los enjuagues se utilizan para tratar enfermedades bucales como la gingivitis y la halitosis aproximadamente desde el año 2700 d.C. El hábito de morderse el labio se extendió posteriormente a Atenas y Roma, sobre todo entre la clase social alta. Hipócrates hizo una afirmación sobre un enjuague bucal hecho con vino puro, anís, carnero y hojas de olmo (Clínicas Culmen, 2016).

La variedad de productos dentales ha aumentado considerablemente en las últimas décadas, permitiendo a los consumidores encontrar productos dentales para cualquier necesidad gracias a su amplia gama de acciones. Hoy en día, los colutorios dentales se han convertido en uno de los componentes más cruciales de la higiene bucal, sobre todo para la prevención y el tratamiento de la gingivitis, el desarrollo de la placa bacteriana, la progresión de la caries dental, el blanqueamiento de los dientes y la gestión de la halitosis. De acuerdo con la Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos, los clasificamos como productos dentales cosméticos, productos dentales terapéuticos o una combinación de ambos para describir con mayor precisión sus beneficios y simplificar su efecto terapéutico. Los enjuagues dentales cosméticos deben recomendarse porque:

- Favorecer la eliminación de restos de alimentos tanto antes como después de la comida.
- Bloquear temporalmente el mal aliento.
- Reducen el número de microorganismos en la cavidad bucal.
- Tienen un delicioso sabor que refresca el paladar.

Hay que recordar que, a pesar de los numerosos estudios que demuestran la eficacia de estos productos para reducir la biopelícula dental, muchos

dentistas siguen mostrándose escépticos sobre el valor de estos coadyuvantes en cuanto a sus capacidades, como la de prevenir la formación de placa bacteriana. Estos medicamentos pueden adquirirse con o sin receta. Cuando se utilizan productos de higiene dental con fines terapéuticos, es importante tener en cuenta que:

- Este tipo de enjuagues sólo pueden ser prescritos por un cirujano dentista con la intención de ayudar en el tratamiento de problemas bucales.
- Tienen efectos cosméticos al prevenir temporalmente la halitosis.
- Refrescan la boca; eliminan una parte importante de los microorganismos.
- Tienen un principio activo añadido que ayuda al tratamiento bucal y previene el desarrollo de nuevas enfermedades bucales. (University of Miami, 2017).

Entre los elementos fundamentales de los chicles comerciales se incluyen algunos ingredientes adicionales, en particular:

a. Alcohol etílico, utilizado en los laboratorios coloniales para disolver principios activos, también está reconocido como conservante activo al 10-12% por sus propiedades antisépticas. Se utiliza tanto como conservante como disolvente, con un rango de concentración del 5 al 27%. Presenta actividad antimicrobiana contra una variedad de hongos, virus y bacterias porque provocan la desnaturalización de las proteínas y la disolución de los lípidos. La FDA (Food and Drug Administration) regula y aprueba su uso.

b. Cloruro de Cetilpiridinio, Se trata de una sustancia antiséptica con un amplio espectro de actividad frente a bacterias Gram-positivas y -negativas, virus y hongos, con mayor eficacia cuando se aplica in vitro a bacterias Gram-positivas. La formulación mencionada tiene una buena adsorción del pH oral y permanece en la cavidad bucal de tres a cinco horas. Debido a sus propiedades antiplaca, que actúan combatiendo las toxinas proinflamatorias producidas al

liberarse las bacterias, se previene la aparición de gingivitis. Está reconocido por la FDA como un antimicrobiano eficaz y fiable para el tratamiento de la gingivitis relacionada con la placa siempre que se formule con concentraciones entre el 0,045% y el 0,1%. (Parashar, 2015).

c. Cloruro de zinc, que es un compuesto cuya acción impide la volatilización de los productos olorosos. Debido a la precipitación no selectiva de las proteínas, el zinc tiene propiedades antimicrobianas, inhibe el deterioro de los componentes celulares salivales, inhibe la actividad de la tiolproteínasa y disminuye la permeabilidad de las membranas al paso de compuestos volátiles de azufre. También tiene efectos beneficiosos a varios niveles (Parashar, 2015).

d. Aceites Esenciales (Listerine). Los aceites esenciales (AE) son compuestos orgánicos líquidos de naturaleza oleosa y volátil que se obtienen mediante rigurosos procesos químicos a partir de plantas de origen natural. Normalmente no son solubles en agua, pero son fácilmente solubles en alcohol, aceites vegetales, éter y aceites minerales. Los aceites esenciales se obtienen extrayéndolos de diversas partes de plantas:

- ✓ De las hojas, como la hierbabuena, el eucalipto, el ajeno, el toronjil y el limoncillo.
- ✓ De la raíz son el jengibre, la valeriana, la angélica, el azafrán, etc.
- ✓ De las flores, como árnica, manzanilla, clavo de olor, tomillo, etc.
- ✓ De la semilla (cardamomo, por ejemplo).
- ✓ Del pericarpio de la fruta (como la mandarina, la lima o la naranja).

Timol, salicilato de metilo, eucaliptol y mentol son las cuatro sustancias que se combinaron con los cuatro aceites esenciales para crear el enjuague bucal comercial Listerine®. Esta combinación tiene un alto porcentaje de eficacia contra las bacterias bucales. (Listerine, 2017).

e. Digluconato de Clorhexidina, que es una biguanida altamente catiónica que, cuando se utiliza a altas concentraciones, actúa como bactericida

alterando la permeabilidad en las membranas citoplasmáticas bacterianas. Es bacteriostático a bajas concentraciones, impidiendo el mecanismo de transporte del fosfoenolpiruvato fosfotransferasa. Posee una actividad antibacteriana rápida y duradera que reduce la presencia de gérmenes orgánicos; es activo frente a bacterias Gram-positivas y menos activo frente a bacterias Gram-negativas. Cuando se utiliza durante un periodo prolongado, suele tener efectos negativos que pueden incluir tinciones extrínsecas en dientes, lengua y en algunas personas, un cambio pasajero del gusto. Los efectos negativos disminuyen si se reduce la dosis total de clorhexidina. (Dentaid, 2017).

El clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) originaria de Indonesia, vive en ambientes tropicales. Crece en superficies inclinadas lateralmente o ricas en humus arcilloso. El árbol mide entre 7 y 12 metros de altura, y sus largos tallos están ramificados con una corteza gris y coriáceas simples, alternas y puntiagudas que recuerdan al laurel en color y brillo. Su olor se debe a la presencia de glándulas oleíferas. La flor es un tetrámero, un actinomorfo, y el fruto es un laurel pequeño, alargado y comestible. El cáliz está formado por cuatro sépalos unidos en la base y libres en el ápice. Los capuchones florales que se asemejan a la cabeza del clavo constituyen el componente esencial del olor clavo. Al masticar concede un sabor ácido, acre y amargo que deja una sensación de frío en la boca, pero al cocinarlo se mitiga su efecto. 2019 (Méndez Echevarra)

Los dos principales componentes volátiles del anillo de olor y compuestos con actividad antibacteriana son el eugenol (2-metoxi-4-alil fenol) y el aldehído cinámico (3-fenil-2-propenal). El aceite esencial está compuesto por un 83,6% de eugenol, un 11,6% de eugenol acetato y un 4,2% de cariofileno. Su mecanismo de acción está ligado a su capacidad para interactuar con el citoplasma del patógeno, y su resultado, a la solubilidad de cada componente (Moran Andrade et al., 2018).

La principal fuente de compuestos fenolíticos, flavonoides, ácidos hidroxibenzoicos y ácidos hidroxicinámicos es la hendidura aromática. El aceite esencial del clavo contiene un 2,1% de humuleno y contiene pequeñas cantidades de los siguientes compuestos volátiles: pineno, limoneno, farnesol, benzaldehído, 2-heptona y etilhexanoato (Méndez Echevarra, 2019).

El clavo de olor tiene grandes efectos farmacológicos como en tratamientos de inflamaciones de la mucosa que recubre la boca y la garganta. Además, funciona como antiséptico, desinfectante y analgésico; por esta última propiedad, se utiliza para tratar el dolor de muelas y de cabeza. También es un eficaz repelente de mosquitos (Díaz, 2016, p. 78).

Los botones machacados se utilizan en enjuagues bucales o masticaciones para aliviar el dolor de muelas. El fruto se utiliza para tratar afecciones respiratorias, cardíacas y digestivas. El polvo y la decocción de la especie vegetal se utilizan tanto interna como externamente para tratar heridas, contusiones, tumores y algunos tipos de cáncer. La tintura ayuda a tratar infecciones digestivas y a reducir la rabia (González, 2015, p. 56).

Las hojas de *Eucalyptus globulus* contienen una textura coriácea, se enroscan verticalmente o en diagonal y están salpicadas de glándulas que poseen un aceite volátil perfumado. Las flores de la cabeza están encerradas en una cubierta en forma de copa, de ahí el nombre del género, que deriva del griego *eucalyptos* (también cubierto), que se distiende como una tapa a medida que crece la flor. El fruto está encerrado en un recipiente coriáceo en forma de copa y está relleno de varias semillitas. El fruto está rodeado por un recipiente coriáceo en forma de copa que contiene numerosas semillitas. Las primeras hojas son de color marrón oscuro, sin tallos altos, y se disponen enfrentadas y en horizontal. Sin embargo, al cabo de cuatro o cinco años, aparecen nuevas hojas de forma más alargada, como una espada, que miden de quince a veinte centímetros de largo y se disponen de forma alterna y vertical, produciendo peculiares efectos de luces y sombras. Las flores son

casi totalmente solitarias o se encuentran en racimos. Por destilación acuosa de hojas frescas del eucalipto se obtiene el aceite esencial siendo utilizado en medicina. Cuando se prepara adecuadamente, es un líquido incoloro o pajizo con aroma y sabor característicos que es soluble en su propia cantidad de alcohol. El componente más significativo es el eucaliptol, que constituye hasta el 70% del volumen total de *E. globulus*. En medicina queda demostrado su uso en Asma, Bronquitis, Congestión, Sinusitis y Alergias. Antiséptico, estimulante, antiinflamatorio y antihelmíntico (Patil & Nitave, 2014).

Justificación de la investigación

Esta investigación se justifica porque busca la utilización de conceptos básicos y la teoría sobre los conocimientos del efecto Antimicrobiano de enjuague bucal a base de *Eucalyptus globulus* L. (eucalipto) y *Syzygium aromaticum* L. (Clavo de olor)., la gran cantidad de información sobre la fitoterapia actualmente muestra que ya no es un tema vernacular y que las plantas medicinales y los productos derivados de estas, empleadas en todo el mundo, determina casi obligatoriamente que se estudie a nivel científico todos los aspectos relacionados a ellas.

Se justifica de manera metodológica, debido a que se empleó la técnica de investigación, utilizando instrumento válido y confiable para el logro de los objetivos propuestos y obtener resultados sin sesgos que fueron utilizados para su interpretación respectiva.

Se justifica de manera social, el estudio sobre la elaboración de un enjuague bucal cuyos ingredientes activos son naturales, pues los encontramos dentro de las plantas, es un campo de mucha importancia cosmética, de higiene y farmacológica, pues, como se sabe actualmente, las enfermedades de la cavidad bucal afectan a una gran parte de la población razón por la que el uso de preparados a base de plantas sería muy beneficioso para el elevado porcentaje de personas que sufren de estos problemas, con los resultados obtenidos a partir de la ejecución del presente trabajo de investigación esperamos aportar al conocimiento científico sobre el tema en investigación.

Problema

¿Se puede elaborar un enjuague bucal a base de *Eucalipto* (*Eucalyptus globulus* L.) y Clavo de olor (*Syzygium aromaticum* L) *con parámetros de calidad óptimos?*

Conceptuación y operacionalización de variables

Definición conceptual de la variable	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición
Enjuague bucal. Colutorios o enjuague bucal: Producto líquido acuoso o hidroalcohólico. Su acción principal está condicionada por los ingredientes (Equipo redacción, 2001).	Una sola formulación	1. Porcentaje del extracto de eucalipto en la fórmula 2. Porcentaje del extracto de clavo de olor en la fórmula.	Ordinal
Caracteres organolépticos. Son todas aquellas descripciones de las características físicas que generalmente posee el material, tal y como son vistas por los sentidos.	1. Color 2. Sabor 3. Olor 4. Aspecto 5. Textura.	1. Color + tonalidad 2. 5 sabores 3. 1 de los 10 básicos 4. Transp. u opaca 5. Dura, blanda, fluida.	Nominal
Parámetros fisicoquímicos. Es una variable numérica que describe una magnitud física o química. Es necesario determinar cuántas unidades se miden cuando un número describe una magnitud física o química. Por Torres en 2021	1. pH 2. Densidad 3. Índice de ref. 4. Grados Brix 5. Sólidos totales	1. 1 - 14 2. g/mL 3. Adimensional 4. Adimensional 5. g%	De intervalo

Hipótesis

Como en la literatura actual sobre la composición química de las plantas en estudio, su actividad antimicrobiana y la presencia de sustancias específicas como mentol, eucaliptol, eugenol, etc. de conocida acción refrescante, entonces, la formulación de un enjuague bucal con parámetros óptimos de calidad, con estas sustancias es perfectamente factible.

Objetivos

Objetivo general

Formular un enjuague bucal con propiedades antimicrobianas a base de extractos de hojas de Eucalipto (*Eucalyptus globulus L.*) y de botones secos de clavo de olor (*Syzygium aromaticum L.*).

Objetivos específicos

1. Establecer los parámetros de calidad de las hojas de Eucalipto (*Eucalyptus globulus L.*).
2. Establecer los parámetros de calidad de los botones secos de clavo de olor (*Syzygium aromaticum L.*).
3. Establecer los parámetros de calidad del extracto de las hojas de Eucalipto (*Eucalyptus globulus L.*).
4. Establecer los parámetros de calidad del extracto de los botones secos de clavo de olor (*Syzygium aromaticum L.*).
5. Determinar los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto de las hojas de Eucalipto (*Eucalyptus globulus L.*).
6. Determinar los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto de los botones secos de clavo de olor (*Syzygium aromaticum L.*).
7. Establecer la formulación adecuada para la obtención de un enjuague bucal seguro y efectivo.
8. Determinar los caracteres organolépticos y fisicoquímicos del enjuague bucal a base de extractos de Eucalipto (*Eucalyptus globulus L.*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum L.*).
9. Realizar el análisis microbiológico del enjuague bucal a base de extractos de Eucalipto (*Eucalyptus globulus L.*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum L.*).

6 Metodología

a) Tipo y diseño de investigación

Tipo de investigación:

La presente investigación es de tipo básica ya que genera conocimiento de las variables estudiadas aportando información para las futuras investigaciones. (Rodríguez, 2020, s/p).

Se trata de una investigación aplicada que incluye actividades metodológicas y técnicas con el objetivo de conseguir información, preparar un enjuague bucal y ejecutar el control de calidad de este producto.

Diseño de investigación:

Esta investigación se realizó bajo un diseño de investigación descriptivo simple, lo cual ha permitido determinar cada uno de los parámetros de calidad, tanto de la materia prima, como del producto terminado.



Dónde:

M: Muestra (Materia prima o Producto terminado).

O: Resultado de cada una de las técnicas realizadas.

b) Población, muestra y muestreo

Población:

Teniendo en cuenta el tipo de investigación, la población estuvo constituida por 10 lotes de formulación que se emplearon para obtener un enjuague bucal antimicrobiana con extracto de eucalipto. (*Eucalyptus globulus L.*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum L.*).

Criterios de Inclusión:

Se trabajó solamente con materia prima (hojas de Eucalipto (*Eucalyptus globulus L.*) y semillas de clavo de olor (*Syzygium aromaticum L.*)) en buen estado.

Criterios de Exclusión:

No se trabajó con materia prima (hojas de Eucalipto (*Eucalyptus globulus L.*) y semillas de clavo de olor (*Syzygium aromaticum L.*) que presentaron señales que indiquen defectos en la materia prima.

Muestra:

Según la población estudiada, se eligió la mejor formulación de acuerdo con las características organolépticas típicas de un enjuague oral adecuada para el consumidor.

Técnica de muestreo

Muestreo no probabilístico por conveniencia

c) **Técnicas e instrumentos de investigación:**

Recolección de la especie vegetal

Las hojas de Eucalipto (*Eucalyptus globulus* L.) fueron recolectadas en los campos de cultivo del distrito de la Cuesta, Provincia de Otuzco, Región La Libertad. Se recolectaron ramas jóvenes del espécimen en estudio, que muestren condiciones óptimas. Se colocó en embalaje apropiado para su transporte hasta la ciudad de Trujillo.

El clavo de olor (*Syzygium aromaticum* L.) fue obtenido de la empresa ARTSTORE PERU SAC.

Selección

Con todos los especímenes botánicos de *Eucalyptus globulus* L. en el laboratorio, se procedió a la selección de los especímenes vegetales, eliminando las hojas con algún defecto y eligiendo las que se encontraban en mejor estado.

Identificación taxonómica

Solo para el caso del eucalipto (*Eucalyptus globulus* L.), la identificación lo realizó un profesional especialista en ese campo, en un Herbario Universitario.

La identificación del clavo de olor (*Syzygium aromaticum* L.) no se llevó a cabo pues fue adquirida comercialmente y el importador nos proporcionó su ficha técnica.

Acondicionamiento de las hojas de eucalipto (*Eucalyptus globulus* L.)

- Se separaron solamente hojas en cantidad apropiada.
- Se lavaron con agua potable.
- Se llevó a secado en estufa a 25 °C por 72 horas.
- El material vegetal se trituró en un molino.
- El material seco fue almacenado en bolsas de papel kraft grado 100.

Acondicionamiento del Clavo de olor (*Syzygium aromaticum* L.)

- Se llevo a secado en estufa a 25 °C por 72 horas.
- El material vegetal se trituro en un molino.
- El material seco fue almacenado en bolsas de papel kraft grado 100.

Control de calidad de la droga vegetal

Determinación de Humedad

Se pesaron 2 g de las muestras en polvo en la balanza analítica antes de introducirlas en una cápsula de porcelana que previamente se había calentado a 105 °C y se dejó allí durante tres horas.

Una vez transcurrido el tiempo predeterminado, se colocó la cápsula en el desecador durante 10 minutos hasta alcanzar la temperatura ambiente y luego se pesaron. Después, se colocó en el horno durante una hora enfriando para obtener el segundo peso, se realizó de esta manera para obtener un peso constante (Zuñiga, 2011, p. 112).

Para obtener los datos, se aplicó la siguiente ecuación:

$$\%H = \frac{M2 - M1}{M2 - M} \times 100$$

%H= porcentaje de humedad (%)

M2 = masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g)

M1= masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

M= masa de la cápsula vacía (g)

100= factor matemático

Determinación de cenizas

Se colocaron 3 g de la muestra molida en un crisol previamente preparado, se carbonizó en un reverberador y, a continuación, se llevó a la mufla a 750 °C durante dos horas.

Pesamos el crisol después de haberlo enfriado durante 30 minutos, y luego repetimos el proceso para obtener un peso constante. Como no se podían obtener cenizas blancas, añadimos tres gotas de peróxido de hidrógeno concentrado y calentamos la mezcla a fuego lento hasta que se evaporaron los disolventes.

(Zuñiga, 2011, p. 119).

Expresión de los resultados:

$$\%C = \frac{M1 - M2}{M2 - M} \times 100$$

%C= Porcentaje de cenizas totales en base hidratada

M = Masa del crisol Vacío (g)

M1= Masa de crisol con muestra antes de incinerar (g)

M2= Masa del crisol con las cenizas después de incinerar (g)

100= Factor matemático

Determinación de cenizas solubles en agua

Las cenizas totales obtenidas anteriormente se añadieron 20 ml de agua destilada, tapando el crisol y se hirvió durante 10 minutos. A continuación, se filtró la solución utilizando filtros de papel, y el papel que contenía los residuos filtrados se colocó de nuevo en el crisol inicial y se dejó carbonizar durante otras dos horas antes de colocarlo en el desecador para secarlo y pesarlo (Rubio, 2014, p. 89).

Expresión de los resultados:

$$\%Ca = \frac{M2 - Ma}{M1 - M} \times 100$$

%Ca = Porcentaje de cenizas solubles en agua en base Hidratada

M2 = Masa de crisol con las cenizas totales (g).

Ma = Masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g).

M1 = Masa del crisol con muestra de ensayo (g).

M = Masa del crisol vacío

100=Factor matemático.

Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

A la cantidad total de cenizas previamente extraídas se le añadieron 3 mililitros de ácido clorhídrico al 10%, se selló el crisol con un vidrio de reloj, en baño maría se calentó durante 10 minutos y luego se lavó el vidrio.

Después de filtrar la solución en un papel de filtro, lavamos los restos en agua caliente, se añadieron 2 gotas de la solución de nitrato de plata (0,1 mol L). El filtrado que contenía el residuo se calentó a 105 °C en el horno, se transfirió al crisol inicial y, a continuación, se incinero durante dos horas a 750 °C en el microondas. A continuación, enfriamos en el desecador y se peso, 2014, p. 89).

Expresión de los resultados:

$$\%B = \frac{M2 - Ms}{M1 - M} \times 100$$

%B= Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada

M= Masa del crisol vacío (g)

M1= Masa del crisol con la muestra (g)

M2 = Masa del crisol con las cenizas insolubles en ácido clorhídrico (g)

Ms = Masa del crisol con las cenizas totales (g)

100= Factor matemático

Obtención de los extractos

- 20 g de material vegetal en estudio se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL.
- 100 mL de menstruo (etanol al 70 % V/V) se añadió al matraz.
- Se armó el equipo de reflujo y se sometió a reflujo durante 30 min.
- El extracto se filtró al vacío.
- El extracto se almacenó en un frasco ámbar.

Tamizaje fitoquímico del material vegetal en estudio

La determinación de metabolitos secundarios presentes se realizó bajo la metodología de Miranda & Cuellar, 2000:

- Borntrager: En un tubo de ensayo de 7 x 10, se combinaron 2 mL de extracto y 1 mL de hidróxido de sodio al 5%. Las fases se agitaron juntas y se dejaron reposar hasta su posterior separación.

Dragendorff: En un tubo de ensayo de 7 x 10, se añadieron 2 mL de extracto, seguidos de gotas de HCl al 1% hasta que el pH ácido, y luego agregamos tres gotas del reactivo Dragendorff .

- Mayer: En un tubo de ensayo de 7 x 10, se añadieron 2 mL de extracto, seguidos de gotas de HCl al 1% hasta que el pH fuera ácido, y después tres gotas del reactivado de Mayer.

- Pruebas de resinas: se añadieron 2 mL de extracto a un tubo de ensayo de 7 x 10 y se llevaron hasta extracto blando. Se añadió 1 mL de etanol de 96° y 2 mL de agua destilada.

- Ninhidrina: se agregaron 2 mL de extracto a un tubo de ensayo de 7 x 10, y se llevaron hasta extracto blando. Se agregó 1 mL de etanol de 96°. Se agregaron II gotas de ninhidrina al 2%. La mezcla en baño maría se calentó durante 5 minutos.
- Fehling: Se colocaron 2 mL de extracto en un tubo de ensayo de 7 x 10, y se llevaron hasta extracto blando. Después de añadir 2 mL de reactivo de Fehling, en baño maría se calentó durante 5 minutos.
- Prueba de Antocianidinas: 2 mL del extracto se calentaron durante 10 minutos con 1 mL de HCl. Dejamos enfriar, se añadió 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico después agitamos y se dejó reposar para la separación de las dos fases.
- Prueba de Baljet: Se llevaron 5 mL de extracto a extracto blando y luego se redisolvieron en 1 mL de etanol de 96°. En estas condiciones se añadió el reactivo de Baljet.
- Liebermann-Burchart: A 5 mL de extracto se añadieron 0,5 mL de ácido acético, 1 mL de ácido acético y luego dos gotas de ácido sulfúrico concentrado.
- Tricloruro Férrico: Se agrego 2mL de extracto en un tubo de ensayo de 7 x 10 y llevándose hasta extracto blando, agregamos 1mL de etanol de 96% y 1 gota de tricloruro de hierro al 5%.

Determinación de pH

- La medición del pH se realizó con un pH-metro digital (Cevallos, 2013).

Determinación del índice de refracción

- Se uso un refractómetro previamente calibrado con agua destilada (Viteri, 2015).

Determinación de la densidad relativa

- Es un método gravimétrico que consiste en la relación entre la masa de un cuerpo y la masa del agua, de esta manera comprobar el grado de

pureza de una sustancia líquida a la misma temperatura (Cevallos, 2013, p.70).

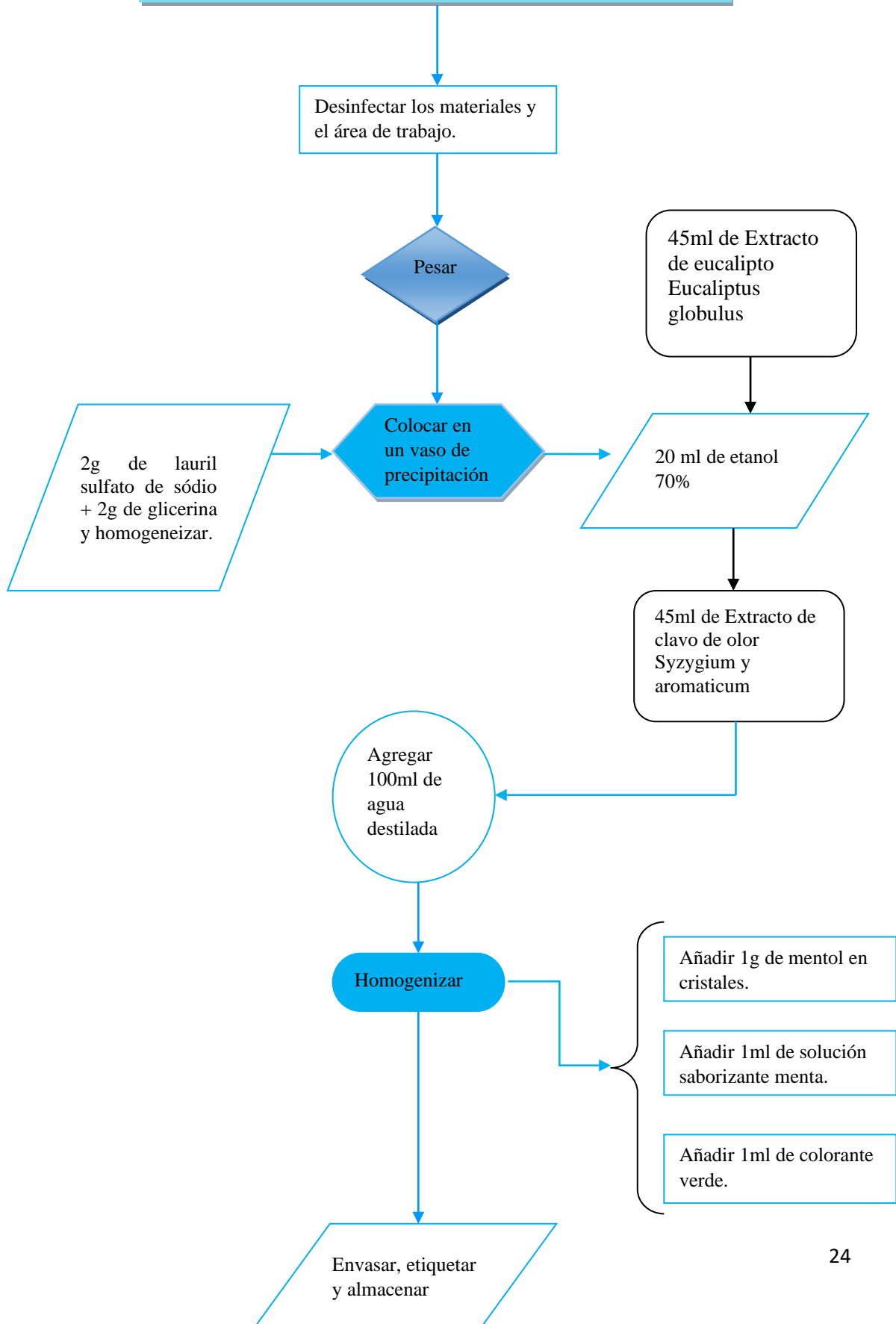
Elaboración del enjuague bucal con extracto hidroalcohólico de eucalipto (*Eucalyptus globulus L.*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*)

Para crear una formulación ideal para mantener la higiene bucal, se utilizaron varias concentraciones de componentes en la creación del enjuague bucal. Para combatir las bacterias que causan diversas patologías en la cavidad bucal, se eligieron los ingredientes primarios más importantes que imparten un sabor refrescante, entre ellos: tensioactivo (Lauril sulfato de sodio), que actúa como espumante; humectante (glicerina), que previene la sequedad de la mucosa bucal, solución colorante verde y azul; solución saborizante que actúa como refrescante tras el uso del producto; y los principios activos eucalipto (*Eucalyptus globulus L.*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), que ejercen sus efectos terapéuticos. Es fundamental recordar que la formulación óptima no utilizará sorbato potásico porque el alcohol actúa como conservante. (Veloz, 2011).

Procedimiento para la elaboración del enjuague bucal

Tras seleccionar los ingredientes que se utilizarían para crear el enjuague bucal. Para obtener un producto libre de contaminantes, el proceso comenzó con la limpieza de la zona de trabajo. A continuación, se calculó la cantidad necesaria de extractos y excipientes. Se añadió cada uno de los componentes el sulfato de sodio con la glicerina, se homogenizó con ayuda de un agitador. Luego se añadió el alcohol junto con los principios activos y agitamos. El agua destilada, que servirá de disolvente de la mezcla, se añadió antes de combinar las soluciones saborizantes (menta) y colorantes. A continuación, el producto acabado se envasó y etiquetó adecuadamente.

Formulación de enjuague bucal con propiedades antimicrobianas a base de eucalipto (*Eucalyptus globulus* L.) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum* L.)



Control de calidad del enjuague bucal con propiedades antimicrobianas

Parámetros organolépticos

Se realizó la evaluación del aspecto, color, olor, sabor y presencia de impurezas.

Determinación de pH del enjuague bucal

Previamente calibrado el pH metro, se colocó 40 ml de producto en un vaso de precipitación de 100 ml y enseguida se introdujo el electrodo limpio y seco para la lectura (Zuñiga, 2011).

Análisis microbiológico

Determinación de Escherichia coli y coliformes totales según NTE INEN-ISO 21150

Cogimos 1 ml de la muestra, colocamos en cajas Petri por duplicado, añadimos 15 ml de agar EMB a cada caja y lo fundimos en baño maría, enfriamos a 44°C. Tras mezclar manualmente con movimientos circulares, se dejó enfriar sobre una superficie plana. Las placas Petri se invirtieron a una temperatura de 38 °C durante 48 horas para Escherichia coli y 24 horas para coliformes totales mientras el agar se solidificaba (Yela, 2021).

Determinación de staphylococcus aureus según NTE INEN – ISO 22718

Tomamos una cantidad de muestra de 1 ml y la colocamos en placas de Petri duplicadas. A continuación, se añadieron 15 ml de agar manitol previamente disuelto en agua de ensalada y calentado a 44 °C. Se realizaron movimientos circulares para mezclar la muestra diluida. Por último, se dejó enfriar sobre una superficie plana durante 24 horas se incubó a una temperatura de 37°C de manera invertida (Yela, 2021).

d) Procesamiento y análisis de la información

A continuación, los resultados se procesaron y organizaron mediante parámetros estadísticos descriptivos promedios con desviación estándar utilizando Microsoft Excel.

7 Resultados

Tabla 1

Parámetros de control de calidad de la materia prima

PRUEBA	<i>Syzygium aromaticum</i> L. (Clavo de olor)	<i>Eucalyptus globulus</i> L. (eucalipto)	Referencia
Color	Marron oscuro	verde	NR
Olor	Sui generis	mentol	NR
Sabor	Picante	picante	NR
Textura	Dura	ligeramente dura y quebradiza	NR
Humedad (%)	11.25 + 0.3502856	13 + 0.40414519	Max 14*
Cenizas totales (%)	6.22 + 0.09609024	8.89 + 0.23860707	Max 12 *
Cenizas solubles en agua (%)	5.14 + 0.0305505	7.44 + 0.02516611	Max 10*
Cenizas solubles en HCl (%)	1.04 + 0.04932883	1.23 + 0.0360551	Max 2*
* (Acosta Granja, 2022)	NR : No hay referencia		

Interpretación:

En la tabla 1, se observa los resultados obtenidos del control de calidad de las drogas vegetales. Se establecen los caracteres organolépticos para ambas especies vegetales; además, se presentan los promedios de cada prueba física, los cuales se realizaron por triplicado; por lo que en la tabla se presenta el valor promedio y con su respectiva desviación estándar. También se presentan los valores referenciales para cada prueba física, que tal y como puede deducirse de la comparación de los resultados con dichos valores, estos se encuentran dentro de la normalidad.

Tabla 2

Parámetros de calidad de los extractos de Syzygium aromaticum L. (Clavo de olor) y Eucaliptus globulus L. (eucalipto)

PRUEBA	<i>Syzygium aromaticum</i> L. (Clavo de olor)	<i>Eucaliptus globulus</i> L. (eucalipto)
Color	Marrón oscuro	Verde oscuro
Olor	Sui generis	Alcanforado
Sabor	Picante	Refrescante
Aspecto	Lig. Transparente	Lig. Transparente
pH	4.35 + 0.06082763	6.03 + 0.11547005
°Brix	1.13 + 0.02081666	0.56 + 0.04582576
Densidad	1.52 + 0.06557439	1.22 + 0.0305505
Solidos extraíbles (%)	2.24 + 0.12	1.25 + 0.04358899

Interpretación:

En la tabla 2, se observa los resultados obtenidos del control de calidad de los extractos de *Syzygium aromaticum* L. (Clavo de olor) y *Eucaliptus globulus* L. (eucalipto). Se establecen los caracteres organolépticos de los extractos de ambas especies vegetales; además, se presentan los promedios de cada prueba física, los cuales se realizaron por triplicado; por lo que en la tabla se presenta el valor promedio con su respectiva desviación estándar.

Tabla 3

Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos de Syzygium aromaticum L. (clavo de olor) y Eucalyptus globulus L. (eucalipto)

Metabolitos	Ensayo	Extracto	
		Syzygium aromaticum L. (Clavo de olor)	Eucalyptus globulus L. (eucalipto)
Triterpenos/esteroides	LIEBERMANN - BURCHARD	Positivo	Positivo
Resinas	RESINAS	Positivo	Positivo
Azúcares reductores	FEHLING	Positivo	Positivo
Saponinas	ESPUMA	Positivo	Negativo
Quinonas	BORNTRAGER	Positivo	Positivo
Comp. fenólicos	CLORURO FÉRRICO	Positivo	Positivo
Flavonoides	SHINODA	Positivo	Positivo
Catequinas	CATEQUINAS	Positivo	Positivo
Antocianidinas	ANTOCIANIDINAS	Positivo	Negativo
Aminoácidos/aminas	Ninhidrina	Negativo	Positivo
Cardenolidos	Kedde	Negativo	Negativo
Lactonas y cumarinas	BALJET	Positivo	Negativo
	DRAGENDORFF	Positivo	Negativo
Alcaloides	MAYER	Positivo	Negativo
	WAGNER	Positivo	Negativo

Interpretación:

En la tabla 3, se muestran los resultados del tamizaje fitoquímico, los cuales fueron realizados por triplicado para los extractos de ambas plantas en estudio. Esta prueba se realizó solo en el extracto obtenido usando etanol al 70 % como solvente. Tal y como se muestra en la tabla las pruebas cualitativas de coloración y precipitación, reveló que las sustancias extraídas a partir de las drogas vegetales en evaluación son muy similares; pero debemos destacar que en el eucalipto no hay alcaloides, en cambio sí comparten la presencia de sustancias polifenólicas.

Tabla 4*Formula del enjuague bucal*

Ingredientes	Cantidad	Porcentaje final
Lauril sulfato de sodio	2 g	1.78 % p/v
Etanol 70 %	20 mL	17.85 % v/v
Glicerina	2 g	1.79%
Mentol en cristales	1 g	0.90%
Colorante verde (solución)	1 mL	0.90%
Saborizante menta (solución)	1 mL	0.90%
Extracto de Syzygium aromaticum L. (Clavo de olor)	45 mL	40.18%
Extracto de Eucaliptus globulus L. (eucalipto)	45 mL	40.18%

Modificado de: (Acosta Granja, 2022)

Interpretación:

Para la elaboración del enjuague bucal se realizó la modificación de la formula final realizada por Acosta G., (2022) con volúmenes iguales de cada uno de los extractos Syzygium aromaticum y Eucaliptus globulus L. (eucalipto), más los excipientes con lo que se obtuvo el enjuague bucal, el cual debe tener las condiciones inherentes a un producto destinados al cuidado oral. El uso de cristales de mentol junto con el saborizante de mentol para obtener el sabor característico a menta. La presencia de alcohol actúa como conservante. El tensioactivo Lauril sulfato de sodio concede la acción espumante del enjuague.

Tabla 5

Características organolépticas y físico químicas del enjuague bucal.

Parámetro	Resultado
Color	Verde
Sabor	Menta
Olor	Menta
Aspecto	Transparente
pH	5.5
Densidad	1.1918 + 0.05458
IR	1.3
Grados Brix	0.9

Interpretación:

Los resultados de las pruebas organolépticas y del análisis del enjuague bucal preparado se presentan en la Tabla 5. Nuestro producto tiene un aspecto uniforme, un color verde, está libre de impurezas y tiene un sabor refrescante y mentolado. La Food and Drug Administration (FDA) autorizó la venta libre y sin receta de enjuagues bucales con pH neutro para los productos que contienen etanol, considerado un conservante y un disolvente en concentraciones entre el 5% y el 27%.

Tabla 6*Resultados del control microbiológico del enjuague bucal*

Microorganismo	Resultado	
	Día N° 3	Día N° 30
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	Ausencia
<i>Coliformes totales</i>	Ausencia	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	Ausencia

Interpretación:

El control microbiológico indicado en la Tab. 6 comprobó la ausencia de microorganismos en el producto preparado. De acuerdo con los requisitos descritos en la NTE INEN 2867 2015, que estipula que los cosméticos deben cumplir los requisitos de fabricación físicos y químicos y utilizar buenas prácticas de manufactura, se determina la inocuidad y seguridad de los productos, garantizando la seguridad del producto desde la producción hasta el consumo. La presencia de *E. coli* y coliformes totales indica contaminación fecal del producto, que puede provocar enfermedades diarreicas. La presencia de *S. aureus* indica un proceso de fabricación defectuoso, una conducta inadecuada de los empleados e información sobre los procedimientos de limpieza y desinfección utilizados en diversas industrias.

8 Análisis y discusión

En la elaboración de cualquier producto para consumo humano, siempre se parte de la materia prima. En nuestra investigación, los ingredientes fundamentales son los extractos hidroalcohólicos de *Syzygium aromaticum* L. (clavo de olor) y *Eucalyptus globulus* L. (eucalipto); por lo tanto, lo primero que se realizó fueron las pruebas de control de calidad de la parte de estas plantas que iba a ser utilizada en la elaboración del enjuague bucal. Los resultados del control de calidad de materia prima se muestran en la tabla 1. Siendo los clavos de olor los capullos secos y no abiertos de la flor del árbol de clavo, la descripción de los caracteres organolépticos resulta sencilla pues a simple vista tiene una forma alargada y puntiaguda (muy similar a un clavo común y corriente), son estructuras duras con una longitud de unos 1,0 a 1.5 centímetros y un color marrón oscuro, despiden un olor característico por su contenido alto en eugenol y tiene un sabor fuerte y ligeramente dulce. En cuanto a las características de las hojas de eucalipto, nosotros trabajamos con la hoja joven de esta planta, material muy conocido como alcanfor en nuestra región (ramas y hojas jóvenes). Esta materia prima, las hojas de esta especie son de forma lanceolada, con un tamaño de entre 6 y 12 cm de longitud y un color verde intenso y brillante, de sabor amargo y algo picante, despiden un olor mentolado y fresco, con una textura áspera y coriácea y al tacto se siente pegajosa.

En cuanto al análisis fisicoquímico de la materia prima, la tabla 1 nos muestra los resultados de la humedad de la droga a partir de la cual se trabajó, estando estos valores dentro de lo permitido que es 14 % como máximo de humedad residual, lo que corresponde a la determinación de la droga seca y no de la materia prima fresca. El clavo de olor tiene menos humedad (11.25 %) que el eucalipto (13 %). Las cenizas totales al ser cuantificadas están dentro de lo permitido, pues son de 6.22 % para el clavo de olor y 8.89 % para las hojas de eucalipto, lo cual está dentro del rango permitido y que es 12 % como

máximo. Las cenizas solubles en agua al ser cuantificadas están dentro de lo permitido, pues son de 5.14 % para el clavo de olor y 7.44 % para las hojas de eucalipto, lo cual está dentro del rango permitido y que es 10 % como máximo. Las cenizas solubles en ácido clorhídrico al ser cuantificadas están dentro de lo permitido, pues son de 1.04 % para el clavo de olor y 1.23 % para las hojas de eucalipto, lo cual está dentro del rango permitido y que es 2 % como máximo. (Acosta Granja, 2022)

Para realizar el control de calidad de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Eucaliptus globulus* L. (eucalipto) y *Syzygium aromaticum* L. (clavo de olor) se tomaron en cuenta los parámetros que se muestran en la Tabla 2. Los resultados para ambos extractos tienen un sabor picante y ligeramente amargo, la cual contribuiría en la conservación del producto, pues posiblemente actúen previniendo el crecimiento microbiano. Su aromaticidad resulta de los aceites esenciales que ambas plantas tienen y que les otorgan a ambos extractos propiedades antimicrobianas lo que contribuiría a la eficacia del producto en evaluación y que está destinado al cuidado de la higiene bucal con características fisicoquímicas beneficiosas para las personas (Bodero, 2010). Se demostró que ambos extractos evaluados son líquidos, con un olor alcohólico debido al etanol al 70 % usado como solvente extractor; pero siempre se percibe el olor característico a las plantas de donde provienen, en cuanto al sabor fue amargo para *Eucaliptus globulus* L. (eucalipto) y *picante* para *Syzygium aromaticum*, esto se debe a la presencia de alcaloides en la muestra de clavos de olor. De igual forma, se observó un color verde oscuro en el extracto hidroalcohólico de *Eucaliptus globulus* L. (eucalipto) debido a la clorofila presente en la materia prima. El extracto hidroalcohólico de *Syzygium aromaticum* L. (clavo de olor) fue de color marrón oscuro. Los sólidos totales extraíbles determinan la cantidad de masa o materia sólida que estaba dentro de las células del tejido vegetal y que por acción del solvente extractor es disuelta y obligada a salir gracias a la diferencia de concentración en ambas fases. Los valores fueron 2.24 % y 1,22 % para clavo de olor y eucalipto respectivamente. Todo esto se fundamenta en que antes de ejecutar el

procedimiento, primero se debe haber comprobado la calidad de la droga cruda, tal y como se ha realizado en el presente trabajo de investigación. Además, debemos aclarar que no se han establecido valores normales de rendimiento de extracción, pues existen muchos métodos para realizar las extracciones y dependen mucho del tamaño de partícula de la droga, de la relación de la masa de la droga y el volumen del solvente extractor y principalmente del tipo de droga, pues esta puede ser una droga potente o muy activa (heroicas) o puede ser una droga no muy activa (droga no heroica), (Miranda M, Cuellar A, 2000)

En la tabla 2, también se muestran los resultados obtenidos para algunos parámetros como son pH y densidad de ambos extractos. Ambos extractos muestran que tienen el pH ácido; pero el extracto de clavo de olor es más ácido que el extracto de eucalipto con valores de 4.35 y 6.03 respectivamente. Esto se debe a la presencia de una mayor cantidad de compuestos fenólicos en el extracto de clavo de olor que en el extracto de eucalipto, tal y como se ve en la tabla 3; y como se sabe la presencia de grupos OH le confiere mayor acidez en las sustancias químicas.

Los resultados del screening fitoquímico que se muestran en la tabla 3 se realizaron por triplicados en los extractos de *Syzygium aromaticum* L. (clavo de olor) y de *Eucalyptus globulus* L. (eucalipto). Este conjunto de técnicas se constituye en uno de los más representativos protocolos para iniciar el estudio de plantas medicinales porque posibilita la determinación preliminar de compuestos químicos, los cuales pertenecen a un grupo particular de sustancias con características similares y por lo tanto casi siempre con similar actividad biológica. Estos grupos de sustancias tienen en común que comparten una estructura química común o también comparten la presencia de determinados grupos químicos funcionales. El tamizaje fitoquímico del extracto de las hojas de *Eucalyptus globulus* L. (eucalipto) y clavo de olor *Syzygium aromaticum* L. (clavo de olor) se realizó solamente en el extracto hidroalcohólico. Se

realizaron las pruebas cualitativas de coloración y precipitación, como por ejemplo los ensayos de Mayer, Dragendorff y Wagner, cuya reacción positiva se evidenció por la aparición de un precipitado de color rojo, naranja o marrón, que evidencia la presencia de alcaloides.

En la tabla 4, se consigna todos los ingredientes, sus cantidades y sus porcentajes dentro de la formulación del enjuague bucal. Actualmente, se tiene la facilidad de contar con acceso a internet, entonces se facilita la ubicación y elección de una fórmula básica para el producto que deseamos elaborar. La mayor dificultad consiste en compatibilizar los ingredientes con el modus operandi, ya que, en muchas ocasiones, como en nuestro caso que no contamos con un liofilizador o con un secador por atomización para obtener el extracto seco de ambas plantas y así preparar la fórmula que desarrolló Acosta Granja, (2022). Esta situación no es un impedimento pues como la formula final consigna el uso de 20 ml de etanol puro y los extractos fueron elaborados con alcohol de 70 %, entonces, al extracto obtenido se le agregó aproximadamente un volumen de agua destilada equivalente al 80 % de su volumen. Esta solución se somete a eliminación del alcohol etílico colocando el extracto en Baño María a 80 °C hasta reducir el volumen del extracto al volumen inicial, con lo cual el extracto quedó libre de alcohol. Los extractos finales se ajustaron a las concentraciones de 4 % y 2 % para *Eucalyptus globulus* L. (eucalipto) y de *Syzygium aromaticum* L. (clavo de olor) respectivamente. Una vez terminado el proceso de ajustar la concentración de ambos extractos se realizó la elaboración del enjuague bucal siguiendo la formulación que se consigna en la tabla 4. Para cualquier producto que tenga etanol en su composición, se considera que este actúa como conservante y disolvente cuando su concentración esta entre 5 a 27%, pues estas concentraciones tienen actividad antimicrobiana (bacterias, hongos y virus) por desnaturalizar las proteínas y disolver a los lípidos. El alcohol es usado como disolvente de principios

activos y actúa como un antiséptico; por tal motivo la formulación diseñada cumple con los requisitos establecidos.

Los resultados de la ejecución de las pruebas del control de calidad del enjuague bucal a base de extracto hidroalcohólico de hojas de *Eucalyptus globulus* L. (eucalipto) y *Syzygium aromaticum* L. (clavo de olor) se muestran en la tabla 5. Los resultados nos permiten establecer que nuestro enjuague tiene un sabor a menta, huele a menta, es de color verde, que lo relaciona inmediatamente con la menta y es absolutamente transparente. El pH de 6.5 indica que es ligeramente ácido, lo cual es normal debido a la gran cantidad de compuestos fenólicos provenientes de la materia prima vegetal lo cual ayuda como conservante ya que posiblemente inhiba el crecimiento de microbios en el enjuague bucal. En cuanto al valor de su densidad relativa de 1.1918 al ser comparado con la densidad del agua que es 1.0 g/mL vemos que es mayor por 2 centésimos, lo cual es razonable, pues tiene una buena cantidad de sustancias en su composición. El índice de refracción y los grados brix son lo que se esperaba pues esta formulación tiene muy pocos azúcares en su composición.

El control microbiológico figura en el cuadro 6. Estas pruebas se realizan para determinar la ausencia o presencia de determinados microorganismos considerados como tales según criterios de aceptabilidad. Los resultados del análisis microbiológico se muestran en la Tabla 6. Según la NTE INEN 2867 2015, los productos cosméticos deben presentar unas condiciones físicas y químicas ideales. Esto se consigue mediante los buenos procedimientos de fabricación, que garantizan la pureza y seguridad de los productos mencionados. El objetivo de las BPM (Buenas Prácticas de Fabricación) es reducir los riesgos de contaminación, que puede ser química, física o biológica (Anah, 2017). Un resultado positivo que confirme la presencia de *E. coli* y todos los coliformes apunta a una contaminación fecal de los productos cosméticos o alimentarios. La presencia de *S. aureus* indica errores cometidos durante la producción del producto, sirviendo como señal de las técnicas de limpieza y desinfección empleadas por la industria. (Yela, 2021, p. 118)

9 Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

1. Las hojas de Eucalipto (*Eucaliptus globulus L.*) como materia prima son de color verde, huelen a mentol, de sabor picante, ligeramente duras y quebradizas, con humedad de 13 g%, cenizas totales 8.89 g%, cenizas solubles en agua 7.44 g% y cenizas solubles en HCl 1.23 g%.
2. Los botones secos de clavo de olor (*Syzygium aromaticum L.*) como materia prima son de color marrón oscuro, de olor característico a clavo de olor, de sabor picante, duros, con humedad de 11.25 g%, cenizas totales 6.22 g%, cenizas solubles en agua 5.14 g% y cenizas solubles en HCl 1.04 g%.
3. El extracto de Eucalipto (*Eucaliptus globulus L.*) es de color verde oscuro, huelen a alcanfor, sabor refrescante, ligeramente transparente, con 6.03 de pH, 0.56 grados Brix, una densidad de 1.22 g/mL, y 1.25 g% de sólidos extraíbles.
4. El extracto de los botones secos de clavo de olor (*Syzygium aromaticum L.*) es de color marrón oscuro, olor suigeneris, sabor picante, ligeramente transparente, con 4.35 de pH, 1.13 grados Brix, una densidad de 1.42 g/mL, y 2.24 g% de sólidos extraíbles.
5. En el extracto de las hojas de Eucalipto (*Eucaliptus globulus L.*) se encuentra triterpenos y esteroides, resinas, azúcares reductores, quinonas, compuestos fenólicos, flavonoides, catequinas y aminoácidos/aminas
6. En el extracto de los botones secos de clavo de olor (*Syzygium aromaticum L.*) se encuentra triterpenos y esteroides, resinas, azúcares reductores, saponinas, quinonas, compuestos fenólicos, flavonoides, catequinas, antocianidinas, lactonas y cumarinas; y alcaloides.
7. La fórmula final y considerada como la más adecuada para elaborar el enjuague bucal considera un porcentaje de 40.18 % en volumen de cada uno de los extractos y el resto de los componentes de la formulación,

incluyen 1.7778 % de lauril sulfato de sodio, 17.85 % de etanol, 1.79 % de glicerina, 0.90 % de mentol, 0.90 % de colorante y 0.90 % de saborizante.

8. El enjuague bucal a base de extractos de Eucalipto (*Eucalyptus globulus L.*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum L.*) es de color verde, sabe a menta, huele a menta, es transparente, su densidad es de 1.19 g%, su pH es de 5.5, Su índice de refracción es de 1.3 y tiene solamente 0.9 grados Brixx.
9. El análisis microbiológico del enjuague bucal a base de extractos de Eucalipto (*Eucalyptus globulus L.*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum L.*). muestra que no existe contaminación microbiana.

Recomendaciones:

1. Realizar trabajos de investigación que complementen este estudio.
2. Promover dentro del seno de la sociedad que pueden hacer y usar un colutorio de fórmula extemporánea.

10 Referencias bibliográficas

- Acosta Granja, TE. (2022). *Formulación De Enjuague Bucal Con Propiedades Antimicrobianas A Base De Extractos De Arrayán (Myrcianthes hallii) y Clavo De Olor (Syzygium aromaticum)* (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Chimborazo.
- Calderón Hernández JA. Caracterización fitoquímica, actividad antibacteriana y antioxidante de extractos de plantas medicinales utilizadas en Pereira y Santa Rosa de Cabal (Risaralda). (Licenciatura). Pereira: Facultad de Tecnología. Universidad Tecnológica de Pereira; 2011
- Calle Ortiz, A. R. (2020). Factores asociados y enfoque terapéutico de la halitosis (tesis). Universidad de Guayaquil, Guayaquil.
- DÍAZ ORTÍZ, VERÓNICA CONSUELO. Dspace.uce. Universidad Central Del Ecuador. [En línea] 2016. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/7375/1/T-UCE-0015-380.pdf>.
- Equipo de Redacción. (2001). Colutorios, enjuagues y elixires bucales. *Colutorios, Enjuagues y Elixires Bucles. Higiene Completa*, 15(9), 83–83.
- Gallegos-Zurita, Maritza. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*, 77(4), 327-332. Recuperado en 06 de noviembre de 2020, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002&lng=es&tlng=es
- GONZÁLES VIDES, CRISTIAN ARMANDO. repositorio USAC. Universidad de San Carlos de Guatemala. [En línea] 05 de 2015. [Citado el: 03 de 04 de 2022.] <http://www.repositorio.usac.edu.gt/625/1/Tesis%20CristianFinal.pdf>.

- López Castellanos, Á. V. (2020). Metabolitos secundarios presentes en extractos herbales promisorios para el tratamiento del cáncer cervical: una revisión sistemática de estudios in vitro. (Tesis). Universidad Antonio Nariño, Bogotá.
- Melo Zambrano, C., & Moncada Rodríguez, L. (2016). Propuesta Documental Para La Ejecución De Pruebas De Calidad Con Miras A Establecer Estabilidad Cosmética (Tesis). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales-UDCA, Bogotá.
- Mendez Echevarria, Maria Joselin. Características fisicoquímicas del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* (clavo de olor) y separación de sus componentes relativos hidrocarbonados y oxigenados. Universidad Nacional De Trujillo. [En línea] 2019. <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/15375/Mendez%20Echevarria%20Maria%20Gracia%20Joselin.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Miranda M, Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio: Farmacognosia y productos naturales. (1º, ed) Ed. Universidad de la Habana Cuba. 2000. Pp.: 34- 50
- Montero Surichaqui, B. R. (2021). Eficacia de tres colutorios comerciales en la disminución del nivel de halitosis en pacientes con tratamiento ortodoncico en la clínica odontológica especializada expert dent, lima-2021 (tesis). Universidad Privada Norbert Wiener, Lima.
- Moran Andrade , G., Sicha Quispe , D., & Tasayco Yataco , N. J. (2018). Efecto antifúngico in vitro del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) frente a *Cándida albicans* Atcc 10231 (thesis). Universidad Interamericana, Lima.
- Patil, V. A., & Nitave, S. (2014). *A review on Eucalyptus globulus: a divine medicinal herb*, 3(6), 559–566.

- Pérez Cacho, M. E. (2018). Evaluación a corto plazo del efecto de dos enjuagues bucales como coadyuvantes en el tratamiento de halitosis en estudiantes de la facultad de odontología -2017 (tesis). Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima.
- Rodríguez, D. (2020). Investigación básica: características, definición, ejemplos. Lifeder. Recuperado de <https://www.lifeder.com/investigacion-basica/>.
- RUBIO QUEZADA, CINTHYA STEFANNY. Universidad Técnica de Machala. Repositorio utmachala. [En línea] 2014. [Citado el: 18 de 04 de 2022.] <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1418/7/CD00282-TEISIS.pdf>.
- Somarriba Rocha, M. T., & Santana Espinoza, G. C. (2020). Efectos del enjuague bucal a base de aloe vera en pacientes gestantes con gingivitis en dos centros de salud del municipio de Managua, Noviembre- Diciembre del 2019 (tesis). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua.
- Tigselema Mena, Selene Estefanía. (2020). Enjuagues Bucales Para El Control De Placa Bacteriana (tesis). Universidad de Guayaquil, Guayaquil.
- Torres, C. E. (2021, January 10). *Parámetros*. Power-MI. Retrieved March 6, 2023, from <https://power-mi.com/es/content/par%C3%A1metros#:~:text=Un%20par%C3%A1metro%20es%20una%20variable,qu%C3%A9%20tipo%20de%20amplitud%20es>
- VELOZ VERA, TERESA MELANIA. Universidad Politécnica Salesiana. dspace. [En línea] 02 de 2011. [Citado el: 23 de 03 de 2022.] <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6923/1/UPS-QT02498.pdf>.

VITERI GAVILANES, GABRIELA FERNANDA. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.dspace Espoch. [En línea] 2015. [Citado el: 18 de 04 de 2022.]<http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/2473/1/56T00343.pdf>.

Yauri Tito, Stiven, (2021). Concentración de fluoruro y valoración del pH En colutorios bucales comercializados en La Ciudad De Cusco – 2021. (tesis). Universidad Andina del Cusco, Cusco.

ZUÑIGA LÓPEZ, SILVANA CECILIA. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Dspace Espoch. [En línea] 14 de 12 de 2011. [Citado el: 18 de 04 de 2022.]
<http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/1166>.

11 Agradecimientos

En primer lugar, agradecer a Dios por guiarnos, apoyarnos y fortalecernos en los momentos más difíciles de nuestras vidas.

Gracias también a nuestros familiares por el apoyo incondicional, por la paciencia y por la motivación que no has brindado para continuar en este proceso y lograr uno de los anhelos más deseados.

12 Anexos

Anexo 1

Autorización de la institución donde se va a realizar la recolección de los datos



SOLUCIONES NATURALES AL NATURAL S.R.L.

JR. JOSE SABOGAL NRO. 313 URB. PALERMO - TRUJILLO
TRUJILLO- LA LIBERTAD
RUC 20601408288 - TELEFONO 360453

AUTORIZACION DE USO DE AMBIENTES Y EQUIPO

En atención a la solicitud verbal sobre la prestación de ambiente y equipos de Laboratorio, por parte del Sra. **MARTIR MARINA ANGULO GERVACIO**, identificada con DNI 18105209, con código 1316100132 y el Sr **JOSÉ ABELINO SALAZAR LINARES**, identificado con DNI 71099678, con código 1316100047, alumnos del Programa académico de Farmacia y Bioquímica de la Universidad San Pedro, el cual para culminar su carrera universitaria debe desarrollar un trabajo de investigación que se constituirá en su Tesis de Pregrado.

En representación de la empresa y conociendo que la Universidad san Pedro terminó sus actividades en la ciudad de Trujillo, es nuestra voluntad ceder en forma gratuita nuestro ambiente y equipo (control de calidad) que están en perfecto estado, para que los antes mencionado alumnos realicen las pruebas pertinentes a su trabajo de investigación, bajo la dirección del Q.F. **Mg. Carlos Esteban Cacha Salazar**, dejando constancia que los antes mencionado alumnos traerán los reactivos y otros insumos que necesite para el desarrollo de su investigación que lleva por título "Efecto Antimicrobiano de enjuague bucal a base de *Eucalyptus globulus* L. (eucalipto) y *Syzygium aromaticum* L. (Clavo de olor)".

Se otorga el presente documento a solicitud de los estudiantes, para los fines que estimen conveniente

Trujillo, 11 Marzo del 2023

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Carlos Naval Sopan Benaute', written over a horizontal line.

Carlos Naval Sopan Benaute
Gerente

Anexo 2

Ficha de recolección de datos (instrumento)

FICHA 1: RESULTADOS PRUEBAS MATERIA PRIMA

PRUEBA	Clavo de olor	Eucalipto
Color	Marrón oscuro	Verde
	Marrón oscuro	Verde
	Marrón oscuro	Verde
Olor	Sui generis	Mentol
	Sui generis	Mentol
	Sui generis	Mentol
Sabor	Picante	Picante
	Picante	Picante
	Picante	Picante
Textura	Dura	Lig. dura y quebradiza
	Dura	Lig. dura y quebradiza
	Dura	Lig. dura y quebradiza
Humedad (%)	11.32	13.4
	11.56	13.1
	10.87	12.6
Cenizas totales (%)	6.31	8.82
	6.12	8.76
	6.24	8.38
Cenizas solubles en agua (%)	5.17	7.47
	5.11	7.42
	5.15	7.44
Cenizas solubles en HCl (%)	1.1	1.24
	1.02	1.26
	1.01	1.19

FICHA 2: RESULTADOS PRUEBAS EXTRACTOS

Prueba	Extracto de Clavo de olor	Extracto de Eucalipto
Color	Marrón oscuro	Verde oscuro
	Marrón oscuro	Verde oscuro
	Marrón oscuro	Verde oscuro
Olor	Sui generis	Alcanforado
	Sui generis	Alcanforado
	Sui generis	Alcanforado
Sabor	Picante	Refrescante
	Picante	Refrescante
	Picante	Refrescante
Aspecto	Lig. Transparente	Lig. Transparente
	Lig. Transparente	Lig. Transparente
	Lig. Transparente	Lig. Transparente
pH	4.38	6.1
	4.28	6.1
	4.39	5.9
°Brix	1.14	0.55
	1.15	0.61
	1.11	0.52
Densidad	1.53	1.19
	1.58	1.21
	1.45	1.25
Solidos extraíbles (%)	2.24	1.3
	2.12	1.22
	2.36	1.23

FICHA 3: RESULTADOS PRUEBAS EXTRACTOS

Prueba	Extracto	
	Clavo de olor	Eucalipto
LIEBERMANN - BURCHARD	+	+
	+	+
RESINAS	+	+
	+	+
FEHLING	+	+
	+	+
ESPUMA	+	-
	+	-
BORNTRAGER	+	+
	+	+
CLORURO FÉRRICO	+	+
	+	+
SHINODA	+	+
	+	+
CATEQUINAS	+	+
	+	+
ANTOCIANIDINAS	+	-
	+	-
Ninhidrina	-	+
	-	+
Kedde	-	-
	-	-
BALJET	+	-
	+	-
DRAGENDORFF	+	-
	+	-
MAYER	+	-
	+	-
WAGNER	+	-
	+	-

FICHA 4: RESULTADOS PRUEBAS ENJUAGUE

Parámetro	Resultado
Color	Verde
	Verde
	Verde
Sabor	Menta
	Menta
	Menta
Olor	Menta
	Menta
	Menta
Aspecto	Transparente
	Transparente
	Transparente
pH	5.5
	5.7
	5.4
Densidad	1.21
	1.2
	1.18
IR	1.3
	1.4
	1.3
Grados Brix	0.9
	0.9
	1

FICHA 5: RESULTADOS PRUEBAS MICROBIOLOGÍA

BACTERIAS	Día N° 3	Día N° 30
<i>Escherichia coli</i>	No crece	No crece
	No crece	No crece
	No crece	No crece
<i>Coliformes totales</i>	No crece	No crece
	No crece	No crece
	No crece	No crece
<i>Staphylococcus aureus</i>	No crece	No crece
	No crece	No crece
	No crece	No crece

Recolectando *Eucalyptus globulus* L en la Cuesta



Selección de Eucaliptus globulus L



Colocando el Eucaliptus globulus L. al horno



Syzygium aromaticum L (Pesado, macerado y realizaciòn del sistema de reflujo)

