

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

SEMINARIO DE GRADUACIÓN

**“Alternativas no tradicionales para el control del biofilme dental.
Sustancias alternativas con acción antibacteriana para el año 2016”**

Subtema

“Sustancias alternativas con acción antimicrobiana para la elaboración de enjuagues bucodentales a partir de *Raphanus sativus* (rábano) y *Sesamun indicum* L. (sésamo)”

Directora:

Dra. Natalia Ballester Barquero

Investigadores Asociados:

Dra. Eugenia Madrigal Gutiérrez

Dr. Norman Rojas Campos

Dra. Rosaura Romero Chacón

Sustentantes del Seminario de Graduación

- Priscila Segura Chacón A86058
- Wang Ting Liang Li B13667

San José, Costa Rica

Año 2016



PROGRAMA MACRO DE INVESTIGACIÓN
HOJA DE APROBACIÓN
MEMORIA
SEMINARIO DE GRADUACIÓN

Nombre del Proyecto:

“Alternativas no tradicionales para el control del biofilme dental. Sustancias alternativas con acción antibacteriana para el año 2016”.

Subtema:

“Sustancias alternativas con acción antimicrobiana para la elaboración de enjuagues bucodentales a partir de *Raphanus sativus* (rábano) y *Sesamun indicum L.* (sésamo)”.

Sustentantes:

Fecha: _____

Nombre

Carné

Firma

Priscila Segura Chacón

A86058

Priscila S.

Wang Ting Liang Li

B13667

Miembros del Tribunal

Nombre:

Firma

Natalia M.^a Ballesteros Barquero
Suzanne Murrells Krauthen
David Acuña
Jatiana Vargas
Carlos E. Filley

Natalia M.^a Ballesteros Barquero
Suzanne Murrells Krauthen
David Acuña
Jatiana Vargas
Carlos E. Filley

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
Vicerrectoría de Investigación
Sistema de Bibliotecas, Documentación e Información (SIBDI)
Autorización para la digitalización, inclusión y publicación de trabajos finales de graduación (TFG) en el acervo digital del Sistema de Bibliotecas, Documentación e Información de la Universidad de Costa Rica (SIBDI-UCR).

Los abajo firmantes, en su condición de autores del TFG:

AUTORIZAMOS de forma gratuita al SIBDI-UCR, a digitalizar e incluir dicho TFG en el acervo digital del SIBDI-UCR y a publicarlo a través de la página web u otro medio electrónico, para ser accedido según lo que el SIBDI defina para su consulta o divulgación. Dicho texto se publicará en formato PDF, o en el formato que en su momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre y gratuito, permitiendo su consulta e impresión, pero no su modificación. Los autores del TFG, garantizan al SIBDI-UCR que la tesis es el trabajo original que sirvió para la obtención de su Título, que no infringe ni violenta ningún derecho de terceros.

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____, Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____, Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____, Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____, Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____, Fecha: _____

.....
Para uso interno. Número de tesis: _____

Reconocimientos

Especialmente a Dios, que con su sabiduría, nos ha iluminado para continuar luchando por alcanzar nuestras metas.

Al personal de los laboratorios de CIPRONA, Dra. Rosaura Romero Chacón y Juan Carlos Brenes González, por su colaboración durante el proceso de extracción de los aceites esenciales.

Al Dr. Norman Rojas Campos y a Yeimy Ramírez Zúñiga, laboratorista de la Facultad de Microbiología, por su ayuda en los estudios realizados para la obtención de la evaluación y resultados de las sustancias estudiadas.

A nuestros padres, por darnos su apoyo durante todo el tiempo que hemos trabajado en la presente investigación.

A las doctoras Natalia Ballester Barquero y Eugenia Madrigal Gutiérrez, por su guía y apoyo en este proceso.

Carta de revisión filológica

San José, 27 de noviembre del 2016

Señorita

Meylin Liang

Estimada:

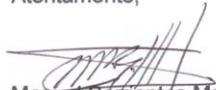
El suscrito, Manuel Barrientos Marín, miembro del Colegio de Licenciados y Profesores en Letras, Filosofía, Ciencias y Artes, con carné número 24939, declara lo siguiente:

1. En calidad de profesional en Letras, fui contratado para revisar filológicamente la Memoria de Graduación titulada **Alternativas no tradicionales para el control del Biofilme Dental. Sustancias alternativas a partir de Raphanus sativus (rábano) y Sesasum indicum (sésamum)**.
2. Se han hecho las sugerencias pertinentes para que se corrijan los problemas **sintácticos y ortográficos** que se detectaron.

En consecuencia, declaro que se ha revisado el texto desde el punto de vista filológico.

Agradezco su atención.

Atentamente,



Manuel Barrientos Marín
Dr. En Literatura
Carné 24939

Índice general

	Pág.
CAPÍTULO 1. PARTE INTRODUCTORIA	1
1.1. Justificación	1
1.2. Planteamiento	4
1.3 Antecedentes sobre el tema	5
1.4 Objetivos del estudio	8
1.4.1. Objetivo general	8
1.4.2. Objetivos específicos	8
CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO	10
2.1. Microbiota presente en cavidad bucodental	11
2.2. Gluconato de clorhexidina como antiséptico	15
2.3. Generalidades del rábano	19
2.3.1. Taxonomía	19
2.3.2. Origen	19
2.3.3. Nombre científico	19
2.3.4. Nombres comunes	20
2.3.5. Características	20
2.4. Método de extracción del aceite esencial de rábano	26
2.5. Generalidades del sésamo	27
2.5.1. Taxonomía	27
2.5.2. Origen	27
2.5.3. Nombre científico	28
2.5.4. Nombres comunes	28
2.5.5. Características	28
2.6. Métodos de extracción del aceite de sésamo	32
CAPÍTULO 3. MÉTODOS DE TRABAJO	34
3.1. Extracción del aceite de rábano	35

3.2. Extracción del aceite de sésamo	37
3.3. Prueba <i>in vitro</i>	39
3.4. Método de difusión para el estudio de las muestras	39
CAPÍTULO 4. DESARROLLO	42
4.1. Resultados	42
4.2. Conclusiones	44
4.3. Discusión	45
4.4. Recomendaciones	48
CAPÍTULO 5. PARTE FINAL	49
5.1. Cronograma	49
5.2. Factores facilitadores/Obstáculos y dificultades	57
5.3. Bitácora	58
5.4. Referencias bibliográficas	60
5.5. Apéndices	68

Índice de ilustraciones

	Pág.
Gráfico 1. Halo de inhibición de extractos de rábano y sésamo y del gluconato de clorhexidina vs. <i>Streptococos mutans</i> .	68
Figura 1. Colocación de las cáscaras de rábano en la estufa.	69
Figura 2. Obtención de la muestra seca de las cáscaras de rábano.	69
Figura 3. Trituración de las cáscaras de rábano secas.	70
Figura 4. Adición del alcohol al rábano triturado.	70
Figura 5. Colocación en ultrasónico del rábano con el solvente.	71
Figura 6. Filtrado del producto obtenido.	71
Figura 7. Proceso de las extracciones 1, 2, 3.	72
Figura 8. Colocación de los extractos etanólicos con rábano en el rotavapor.	72
Figura 9. Obtención del aceite esencial de rábano.	73
Figura 10. Trituración de las semillas de sésamo.	73
Figura 11. Mezcla de sésamo con etanol como solvente.	74
Figura 12. Ultrasónico para agitar la mezcla del sésamo con el solvente.	74
Figura 13. Filtrado de la mezcla del sésamo y el alcohol.	75
Figura 14. Balón con el filtrado en el rotavapor.	75
Figura 15. Vial con la muestra obtenida del aceite esencial de sésamo.	76

Índice de abreviaturas

<i>Actinobacillusactinomycetemcomitans</i>	<i>A. actinomycetemcomitans</i>
<i>Actinomycesnaeslundii</i>	<i>A. naeslundii</i>
<i>Actinomycesodontolyticus</i>	<i>A. odontolyticus</i>
<i>Actinomycesviscosus</i>	<i>A. viscosus</i>
Adenosíntrifosfato	ATP
<i>Candida albicans</i>	<i>C. albicans</i>
Centro de Investigaciones en Productos Naturales	CIPRONA
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>E. corrodens</i>
<i>Fusobacteriumnucleatum</i>	<i>F. nucleatum</i>
<i>Peptostreptococcus micros</i>	<i>P. micros</i>
<i>Porphyromonagingivalis</i>	<i>P. gingivalis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Streptococcus intermedius</i>	<i>S. intermedius</i>
<i>Streptococcus mitis</i>	<i>S. mitis</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>S. mutans</i>
<i>Streptococcusoralis</i>	<i>S. oralis</i>
<i>Streptococcus sanguis</i>	<i>S. sanguis</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
<i>Tannerella forsythia</i>	<i>T. forsythia</i>

Treponema denticola

Universidad de Costa Rica

T. denticola

UCR

Resumen

La salud bucodental representa un aspecto muy importante e indispensable para lograr el bienestar general de cada individuo como un todo.

Actualmente es posible encontrar en el mercado diversos productos que contribuyen a mantener la higiene y la salud oral, como por ejemplo los colutorios elaborados a partir de sustancias químicas que son potentes antisépticos, capaces de controlar la carga microbiana en la cavidad oral.

Las plantas y elementos naturales han sido utilizadas durante mucho tiempo por sus propiedades medicinales y los efectos benéficos que presentan sobre la salud en general. Algunos componentes que tienen ciertas plantas pueden considerarse antisépticos naturales, por lo que podrían ser utilizados como alternativas para la elaboración de enjuagues bucales.

Existen estudios que demuestran las propiedades antisépticas del rábano y del sésamo, ya que han resultado efectivos contra ciertos microorganismos presentes en cavidad oral.

En este trabajo se realizaron extracciones de aceites esenciales de estas 2 plantas, para luego someterlas a pruebas de laboratorio y compararlas con una sustancia antiséptica comúnmente conocida, como lo es el gluconato de clorhexidina.

En el laboratorio se analizaron las muestras en diferentes concentraciones por medio del método de difusión en cajas de Petri sobre un cultivo de una cepa de *Streptococcus mutans* costarricense realizado en agar sangre, y se comparó la efectividad de cada sustancia con el gluconato de clorhexidina como control.

Según los resultados obtenidos, no hubo una inhibición de crecimiento de las bacterias ni difusión a partir de las diluciones utilizadas. En contraste, el control con gluconato de clorhexidina si exhibió halos inhibitorios.

CAPÍTULO 1. PARTE INTRODUCTORIA

1. Justificación

Para el ser humano es importante mantener buena salud a través del bienestar general. Por esta razón, la salud bucodental es necesaria para lograr el equilibrio en el bienestar integral de las personas, pues existen diversas condiciones orales multifactoriales, como las caries, la halitosis y la enfermedad periodontal, entre otras, que pueden comprometer el estado de buena salud como un todo.

Para mantener una adecuada salud bucodental es necesario considerar varios factores importantes, tales como las visitas regulares al profesional en odontología, llevar a cabo las recomendaciones de tratamiento y evitar prácticas nocivas como el fumado, el sexo oral, el uso de pírsines y otros hábitos negativos. Además, la buena higiene bucodental se logra con la aplicación de técnicas de hilado y cepillado apropiadas, según las necesidades individuales. Otras ayudas para la higiene bucodental son: cepillos interdetales, limpiadores de lengua y enjuagues o colutorios dentales ¹ (párr4).

Esta investigación consiste en realizar pruebas para determinar las propiedades antisépticas que puedan presentar las plantas de rábano y sésamo, para ser utilizadas, como alternativas naturales, en la formulación de enjuagues bucales. Estos enjuagues se aplicarían en situaciones similares a aquellas en las que se emplea el gluconato de clorhexidina al 0,12%.

Los enjuagues bucales o colutorios son formas farmacéuticas que se emplean luego del uso del hilo y el cepillado dental con el propósito de eliminar microorganismos o controlar su cantidad y distribución. Existen diferentes tipos de enjuagues cuyo efecto varía en función de su composición. Se han formulado ricos en fluoruro para la prevención de la caries, otros están específicamente indicados para eliminar el biofilme dental o combatir la halitosis ¹ (párr5).

Los mecanismos de acción de los enjuagues bucales para eliminar o controlar el biofilme varían de acuerdo con sus componentes. Dos de los principales compuestos utilizados son el triclosán y el gluconato de clorhexidina ² (p5-7).

El triclosán actúa como agente antibacteriano y fungicida. Mediante estudios *in vitro* se ha descubierto que posee la propiedad de inhibir la enzima proteína portadora enoyl acyl reductasa de la *Escherichia coli* mimetizando su sustrato natural en la estructura molecular. Esta enzima interviene en el

metabolismo de lípidos; además se ha estudiado que el triclosán al unirse a la membrana bacteriana del *Streptococcus aureus*, provoca una fuga de potasio en la misma ² (p5-7).

Por otra parte, el gluconato de clorhexidina tiene espectro antibacteriano tanto contra Gram negativas, como contra Gram positivas; este agente desestabiliza y penetra las membranas, lo cual causa precipitación del citoplasma; y además, obstaculiza la función del oxígeno en la bacteria, lo que causa disminución en los niveles de adenosín trifosfato (ATP). Esto provoca la muerte celular bacteriana ² (p5-7).

En la actualidad se ha dado gran importancia a la búsqueda de alternativas naturales para sustituir los productos químicos presentes en el mercado, con opciones biocompatibles de bajo costo, de fácil acceso y que no presenten efectos secundarios o adversos.

La presente investigación pretende buscar alternativas no tradicionales para ser utilizadas en la elaboración de enjuagues bucales, por medio de pruebas de laboratorio. Los posibles nuevos enjuagues emplearían extractos de aceites esenciales de elementos que se encuentran en la naturaleza, como lo son las plantas de rábano y sésamo. Nuestra meta es probar su poder antiséptico contra

una cepa de *S. mutans* costarricense, en comparación con una sustancia control (gluconato de clorhexidina).

1.2. Planteamiento

En la actualidad se ha hecho referencia a las alternativas naturales que pueden ser utilizadas en el campo de la salud; sin embargo, no se cuenta con suficiente evidencia para demostrar la actividad antiséptica de plantas como el rábano y el sésamo, para considerarlas como una opción en la elaboración de enjuagues bucales que puedan sustituir las sustancias químicas presentes en el mercado, y que comúnmente son las utilizadas clínicamente y por la población en general.

Es por esto que se ha dado gran importancia a la búsqueda de alternativas naturales, con la finalidad de sustituir los antisépticos presentes en el mercado y de tal forma que puedan ser utilizadas en los distintos procedimientos odontológicos. Se busca, además, que sean biocompatibles, que no presenten efectos adversos, que tengan bajo costo, que estén disponibles y sean de fácil acceso para las diferentes poblaciones.

En este caso, el enfoque se ha dirigido al estudio de sustancias que se obtienen de productos naturales, las cuales pueden presentar una acción y propiedades comparables con los biomateriales actuales.

De acuerdo con esto, se pretende resolver la siguiente interrogante: ¿Presentan los extractos de aceites esenciales de rábano o sésamo poder antiséptico suficiente como para la elaboración de enjuagues bucodentales?

1.3. Antecedentes sobre el tema

Durante muchos años se ha hablado acerca de las propiedades que poseen las plantas y las sustancias naturales, las cuales pueden ser beneficiosas para la salud en general y considerarse como alternativas para sustituir productos químicos que se encuentran actualmente en el mercado ^{3 (p2-5)}.

Según Chaves ^{3 (p9)}, la fitoterapia (del griego *phytos*=planta y *therapeia*=terapia), es el uso de las plantas como tratamiento medicinal; es decir, la fitoterapia consiste en el uso de productos vegetales naturales para la prevención, curación o alivio de enfermedades. Es la más amplia y antigua de todas las ciencias, y, a pesar del paso del tiempo, sigue teniendo la misma relevancia, debido a sus buenos resultados ^{3 (p9)}.

Para aprovechar los beneficios que brindan las plantas, en ocasiones se deben someter a distintos procesos para modificar sus elementos y que sus propiedades se activen, pues muchas veces las plantas en su forma natural no producen los efectos que se obtienen una vez procesadas ³ (p8).

En las plantas se pueden encontrar distintos componentes con propiedades medicinales y que posibilitan su uso como medio terapéutico. Uno de los componentes más comunes que se encuentran en los productos naturales son los flavonoides, que son pigmentos presentes en diversos tejidos, con efecto antioxidante y actividad antiséptica ⁴ (p271-273).

El presente estudio se origina en el año 2012, con una investigación sobre sustancias que podrían funcionar como indicadoras de biofilme dental, por ejemplo soluciones reveladoras. El estudio, sin embargo, no arrojó los resultados deseados, pero se descubrió que esas sustancias o aceites esenciales se podían utilizar como desinfectantes de cavidades y enjuagues bucales. Así nace la primera etapa del proceso de investigación. A partir de ahí, en los estudios efectuados en el marco del proyecto de investigación se ha trabajado con varias plantas, por ejemplo, se observó que la albahaca, el anís en estrella, la cola de caballo y el café no presentaron actividad antibacteriana significativa sobre *S. mutans* ⁵ (p27-31), ⁶ (p33-8), ⁷ (p44-8).

Para la prueba del ciprés y las hojas de guayaba, el resultado arrojó que sí presentaban cierta actividad; sin embargo, se evidenció la necesidad de realizar más estudios, ya que el halo inhibitorio no superó el generado por el gluconato de clorhexidina ^{6(p36-8)}. En lo que respecta al orégano, presentó actividad contra el *S. mutants* ATCC3 costarricense ^{5 (p27-31)}.

Según estudios, el rábano mostró actividad antimicrobiana frente a *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella thyphosa*; sus extractos etanólicos y acuosos mostraron actividad contra *S. mutans* y *C. albicans*. El extracto acuoso de la planta entera presentó actividad contra *Micrococcus luteus* y *Staphylococcus epidermidis* ^{8 (p1)}.

En lo que respecta al sésamo, diferentes extractos, entre estos el metanólico, el etanólico y los extractos acuosos de distintas variedades de la planta, han demostrado tener un efecto que varía de moderado a fuerte sobre diferentes microorganismos, como lo son la *Candida albicans*, *S. mutans* y *Staphylococcus aureus*, ya sea cada uno aplicado de manera aislada o en distintas combinaciones, lo cual se traduce en un aumento de la actividad antiséptica ^{9 (p586-7)}.

1.4 Objetivos del estudio

1.4.1. Objetivo general

Evaluar la efectividad de los aceites esenciales de *Raphanus sativus* (rábano) y *Sesamun indicum L.* (sésamo) en comparación con el gluconato de clorhexidina al 0,12% para ser utilizados como posibles alternativas en la elaboración de enjuagues bucales, capaces de controlar los microorganismos presentes en cavidad bucodental.

1.4.2. Objetivos específicos

1. Conocer las propiedades y características del rábano y el sésamo para establecer si presentan actividad antiséptica que pueda ser útil en el control de microorganismos.
2. Comparar el diámetro de los halos de inhibición que resulten de cada uno de los extractos de las plantas en diferentes concentraciones, con los del gluconato de clorhexidina para evaluar su actividad contra una cepa de *Streptococcus mutans* costarricense.

3. Determinar la efectividad de los aceites esenciales de las plantas en estudio para ser utilizados como alternativas naturales en formulaciones de enjuagues bucales para el control del biofilme dental.

CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO

El cuidado de la salud general involucra la salud bucodental. La boca se encuentra normalmente colonizada por diversos microorganismos, que en caso de ruptura del equilibrio, causan enfermedad.

Debido a lo anterior surge el interés por el cuidado bucal y parte de las herramientas que se han creado para tener control de dichos microorganismos son los enjuagues bucales, los cuales se utilizan de forma tanto terapéutica (para el control de enfermedades) como estética (control de halitosis).

En el presente capítulo se describen tanto las formas bacterianas más comunes presentes en cavidad bucal, como las propiedades del gluconato de clorhexidina (el cual es actualmente uno de los antisépticos más utilizados en odontología) ^{2 (p5-7)}. Además, se detallan las características y propiedades que se le atribuyen a las plantas de rábano y sésamo según diversos documentos, y se mencionan los métodos de extracción que pueden ser utilizados para obtención de los aceites esenciales de las plantas en estudio.

2.1. Microbiota presente en cavidad bucodental

El ser humano, antes de nacer, se considera un ser libre de microorganismos como bacterias; sin embargo, en el momento de su nacimiento, al pasar por el canal de parto, el cuerpo es colonizado por numerosos microorganismos provenientes de la microbiota normal del tracto genital de la madre y por bacterias que se encuentran en el ambiente ^{10 (párr2)}.

Conforme pasan los días, el individuo va a ser colonizado según la exposición a los microorganismos y predominarán los que mejor se adapten a cada parte del cuerpo. De esa forma se establece la microbiota indígena o normal ^{10(párr2)}.

La colonización y el establecimiento de la microbiota normal es un proceso continuo que ocurre durante toda la vida del individuo, de tal manera que la población microbiana de un recién nacido será diferente a la de un adulto o un anciano. Por tanto, la microbiota normal, es un grupo de microorganismos localizados en sitios específicos de las distintas partes del cuerpo de cualquier ser vivo pluricelular -tal es el caso del ser humano-, el cual normalmente está en una relación de simbiosis con el hospedero ^{10(párr2)}.

Se considera a la microbiota oral como una de las más complejas y variadas que se pueden encontrar en el cuerpo, ya que en esta cavidad hay diferentes tejidos que funcionan como nichos para los microorganismos presentes

en boca, entre los que se pueden citar las piezas dentales, las encías, la lengua, el paladar duro y el blando. De tal forma, el equilibrio entre el hospedero y los microorganismos se puede alterar con los cambios en el ambiente y la presencia de patógenos oportunistas, es entonces cuando se da la enfermedad ^{11 (p109)}.

A partir del nacimiento, la cavidad bucal se empieza a colonizar por las primeras bacterias, que por lo general son en su mayoría aeróbicas y/o facultativas. Luego aparecerán las bacterias de tipo anaerobias ^{12 (p134)}.

Una vez que ocurre la erupción dental, la microbiota se vuelve más compleja. La mayoría de estas bacterias son comensales y tienen una acción benéfica en el ambiente bucal siempre y cuando se mantengan en equilibrio con el hospedero ^{12 (p135)}.

A corto plazo, los microorganismos se albergan en los tejidos blandos y con el tiempo se adhieren también a las superficies duras y forman un biofilme. Este acúmulo de microorganismos y el producto de su metabolismo son los grandes responsables de la manifestación de las enfermedades y condiciones más comunes en cavidad bucodental como la halitosis, la caries dental y la afectación de los tejidos periodontales ^{12 (p135)}.

A pesar que la mayoría de las especies son capaces de colonizar todos los nichos disponibles en la cavidad oral, las bacterias cariogénicas tales como el *S. mutans*, se limitan a aparecer solo después de darse la erupción dental ¹² (p135).

El biofilme dental es una formación resistente con estructura bien organizada y de adherencia firme a las superficies duras que se encuentran en la boca. Su principal componente son las bacterias, aunque también se pueden encontrar levaduras, virus, protozoarios y otros ¹² (137-143).

La microbiota varía según esté formando parte de la zona supra o subgingival, ya que el ambiente que la rodea es diferente ¹² (p137-143).

En el biofilme supragingival se localizan cocos Gram positivos, bastoncillos, filamentos Gram negativos y espiroquetas. Mientras que la microbiota subgingival se compone mayoritariamente de las formas anaerobias estrictas. En ésta predominan los filamentos, bastoncillos y cocos Gram positivos, entre los que se pueden mencionar los *Streptococcus mitis* y *sanguis*, *Actinomyces viscosus* y *naeslundii*, y especies de *Eubacterium*. Los microorganismos que se encuentran más cercanos a tejidos blandos, incluyen al *S. oralis*, *S. intermedius*, *P. micros*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, y *F. nucleatum* ¹² (p137-143).

Cuando se da la colonización bacteriana del biofilme adquirido, ocurre primero una adhesión reversible de las bacterias a la superficie dental por medio de fuerzas electrostáticas y de Van der Waals. Después se va a dar un anclaje más sólido por medio de enlaces covalentes, iónicos y la formación de puentes de hidrógeno ¹² (137-143).

Los primeros en llegar a colonizar son los estreptococos, especialmente los *S. sanguis*, que son los que representan al complejo amarillo (especies patógenas de estreptococos orales). Otros colonizadores primarios son los complejos definidos, es decir *Actinomyces naeslundii* y *viscosus*. Y también se encuentran otras especies independientes, como los *A. odontolyticus*. Éstos se caracterizan por ser microorganismos anaerobios facultativos y porque se unen a las proteínas presentes en biofilme como la prolina, también a la amilasa- α y al ácido siálico.¹² (p137-143)

Los colonizadores primarios crean un ambiente favorable y promueven que se dé la coagregación bacteriana por medio de interacciones intercelulares y es entonces cuando llegan los colonizadores secundarios. Estos requieren de ecosistemas y características más estrictas en el medio para su crecimiento y se clasifican en los complejos verde, naranja y rojo ¹² (p137-143).

En el complejo verde, el cual es el menos virulento de todos, se encuentran *A. actinomycetes comitans*, *E. corrodens* y *Capnocytophaga spp.* Las especies provenientes de los grupos *Prevotella*, *Fusobacterium* y *Campylobacter* forman el complejo naranja y son los primeros colonizadores secundarios, todos anaerobios, y son los que causan la enfermedad periodontal severa. El complejo rojo (bacterias anaerobias asociadas mayormente a enfermedades periodontales moderadas), está asociado al sangrado bajo provocación del periodonto, se compone de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *T. denticola* ¹² (p137-143).

2.2. Gluconato de clorhexidina como antiséptico

El gluconato de clorhexidina es una sustancia conocida desde 1954 y fue creada durante un estudio sobre la malaria. Originalmente se utilizó para prevenir o tratar infecciones cutáneas y luego se introdujo para su uso en procedimientos médico-quirúrgicos ¹³ (párr2-10).

El gluconato de clorhexidina se encuentra en el mercado costarricense en distintas presentaciones como el enjuague bucal o sustancias de aplicación tópica. Se utiliza comúnmente para controlar la carga microbiana en la cavidad bucodental, por lo que constituye parte del tratamiento para enfermedades como lo son la gingivitis y la enfermedad periodontal ¹⁴(párr1-2), ¹⁵(p96-101).

Otros usos que se dan al gluconato de clorhexidina involucran condiciones como la mucositis en personas que se encuentran bajo tratamiento farmacológico contra el cáncer; también para tratar la estomatitis, estomatitis ulcerativa, gingivitis ulceronecrotizante aguda y otras infecciones en mucosa oral ^{14 (párr1-2), 15 (p96-101)}.

El gluconato de clorhexidina se considera un antiséptico muy útil para la preparación de la piel previo a procedimientos clínicos tales como las intervenciones quirúrgicas, también en el tratamiento del acné y el lavado de heridas. Para estos casos, durante muchos años ha sido el antimicrobiano de elección ya que presenta un efecto rápido y duradero, una actividad persistente en la piel, además que su absorción es mínima y posee acción bacteriostática en bajas concentraciones y bactericida en concentraciones elevadas ^{14(párr1-2), 15(p96-101)}.

Se clasifica como una solución antiséptica que forma parte del grupo de las biguanidas y posee propiedades dicatiónicas, por lo que presenta una alta interacción con compuestos aniónicos^{14(párr1-2), 15(p96-101)}. Además de considerarse un antiséptico de amplio espectro, se dice que es biocompatible ya que no es irritante, ni tóxico, ni provoca reacciones adversas en el nivel sistémico; además, presenta una gran sustentividad y su efecto es rápido ^{14(párr1-2), 15(p96-101)}.

El espectro de acción del gluconato de clorhexidina es amplio y abarca bacterias Gram positivas y Gram negativas, entre ellas los estreptococos, estafilococos, salmonellas *Escherichia coli*, y bacterias anaeróbicas. También es efectiva contra algunos virus, como los entéricos, respiratorios, poliomielitis, el virus del herpes, virus papiloma, citomegalovirus y virus de inmunodeficiencia humana y algunos hongos como la *Candida albicans*. Posee la capacidad de combatir esporas, pero solo si se encuentra a temperaturas elevadas ^{14(párr1-2)}, ^{15(p96-101)}.

Su mecanismo de acción consiste en adherirse a compuestos fosfatados de la membrana celular de los microorganismos gracias a sus propiedades catiónicas cuando se disocia en presencia de un pH fisiológico, para luego penetrar dichas membranas, una vez que las ha desestabilizado y así interferir en la función de alterar los mecanismos de la pared bacteriana, lo cual luego causa la precipitación del citoplasma porque inhibe la utilización de oxígeno. Esto conlleva a una disminución en los niveles ATP y por consiguiente, la muerte celular ^{14(párr1-2)}, ^{15(p96-101)}.

En el caso de las bacterias Gram negativas, el gluconato de clorhexidina actúa sobre la membrana externa, por lo que se da la liberación de enzimas periplasmáticas, y a pesar que la membrana interna no es destruida, se impide la absorción molecular en ella ^{14(párr1)}.

El gluconato de clorhexidina es capaz de inhibir la formación de la capa de biofilme dental mediante la adherencia a los ácidos de las glucoproteínas salivales (por ser grupos aniónicos) y así reduce el grosor de la capa; también pueden unirse a las bacterias presentes en la saliva y de esta manera afecta su adhesión a la superficie dental ^{13 (párr5)}.

En un estudio publicado en el 2013, se siguió un control sobre los niveles de nitrato consumido por la población en estudio: se reguló la cantidad ingerida en los alimentos y se calculó la cantidad de nitrato obtenido de manera endógena derivado del óxido nítrico. Se conoce que el nitrato se obtiene de la sangre por medio de las glándulas salivales y este se acumula en la saliva donde los microorganismos presentes en la microbiota oral provocan su transformación a nitrito. Se mantuvo a los individuos en control por una semana, luego de esto se les sometió a un tratamiento con enjuague bucal con gluconato de clorhexidina por un periodo de una semana, y el resultado fue la reducción, tanto de los niveles salivales como de los plasmáticos de nitrito, luego de haber utilizado el enjuague por el periodo establecido. En los niveles salivales se obtuvo una reducción del 90% de la concentración de nitrito, mientras que en el plasma se redujo en un 25%. Con esto se concluyó que el uso del gluconato de clorhexidina puede causar la reducción en la actividad microbiana de los organismos presentes en la microbiota oral ^{16 (párr1, 18)}.

2.3. Generalidades del rábano

2.3.1. Taxonomía

- Reino: *Plantae*.
- División: *Magnoliophyta*.
- Clase: *Magnoliopsida*.
- Orden: *Brassicales*.
- Familia: *Cruciferae*.
- Género: *Raphanus*.
- Especie: *R. sativus*.

2.3.2. Origen: Extremo Oriente.

2.3.3. Nombre científico (o latino): *Raphanus sativus*.

2.3.4. Nombres comunes

Rábano, rábanos, rábano silvestre, nabo chino, rabanillo, rabanito, rabanita, rabanitos, rabanilla, erradil, rabaneta, rabanete, rabaniza blanca, rabino, rábanito,

rábano pajizo, rábano blanco, rábano blanco redondo, rábano granadino, rábano castellano, rábano encarnado, rábano colorado redondo, rábano macho, rábano largo, rábano redondo, rábano picante ^{17 (p1-3)}.

2.3.5. Características

El rábano es una hortaliza perteneciente a la familia de las crucíferas, en la cual se engloban 380 géneros y unas 3000 especies propias de regiones templadas o frías del hemisferio norte ^{18 (p4)}.

La raíz de esta planta es de fácil cultivo, gruesa, carnosa, muy variable en cuanto a la forma y al tamaño, sin embargo, se puede clasificar en tres variedades. La primera de ellas es el rábano chino, japonés o daikon, el cual tiene origen en Japón, se distingue porque tiene forma cilíndrica y alargada y color blanco, también es conocido como rábano picante ^{18 (p4)}.

Luego se tiene el rábano negro o rábano de invierno, el cual también tiene forma cilíndrica, pero es redondeado, la piel o cáscara es de color negro pero su carne es blanca, la cáscara es difícil de digerir, mas no así su carne ^{18 (p4)}.

La tercera clasificación se conoce como rabanitos, esta variedad puede tener forma ovalada, esférica y hasta cilíndrica, la cáscara tiene diferentes

tonalidades como rojo, rosado, morado o blanco y la carne también es blanca ¹⁸
(p4).

La forma y el tamaño también dependen de la temporada de siembra y cosecha, por lo que otra forma de clasificarlo es de acuerdo a la época, según lo cual se encuentran: rábanos de primavera que tienen forma esférica y no son de gran tamaño; rábanos de verano que tienen forma alargada y su tamaño mayor a los de primavera y la otra variedad es los rábanos de otoño que son de más grandes que los anteriores. No es el caso en Costa Rica, ya que las variedades más comúnmente encontradas son el rábano (forma alargada y color rojo pálido) y el rabanito (pequeño y redondo, además de un color rojo escarlata) ¹⁸ (p4).

Según la literatura también existen otras clasificaciones para describir las variedades de rábanos. Por ejemplo: rábano Cherry Belle. Es una forma precoz que se presenta con un atractivo color rojo cereza. Rábano Novired, al igual que el anterior también es precoz y tiene forma ovalada, aunque con una tonalidad rojo escarlata. Rábano Bolide: presenta una raíz más redondeada y un color rojo escarlata. Rábano redondo escarlata, es uno de los más populares y mientras que el exterior es de color rojo muy vivo, el interior presenta la carne de color blanco. Rábano largo rojo, como su nombre indica, se trata de un rábano alargado y de color rojo. Rábano largo de Mallorca, también presenta una forma alargada y es de color rojizo. Rábano largo murciano; se trata de un rábano alargado y de color

rojo, siendo algo más delgado, pero más alargado que el rábano largo de Mallorca. Rábano Flevo, es un rábano alargado y fino de color rojo. Rábano Sezanne, se trata de un rábano de color rosa o blanco y de forma redonda ^{8 (p1)}.

La planta de rábano es originaria de Europa y Asia; crece en climas templados a altitudes de entre 190 y 1240 metros sobre el nivel del mar, su planta crece de 30-90 cm de altura, sus raíces son gruesas y de varios tamaños, formas y colores, estas raíces son comestibles con un sabor picante en mayor o menor medida de acuerdo a su variedad. Las raíces alargadas pueden medir de 10 a 15 centímetros, mientras que las redondas tienen un diámetro de unos 2 o 3 centímetros. Su peso suele ser de unos 70 gramos, aunque se pueden llegar a encontrar de hasta 1 kilogramo o más ^{17 (p2)}.

Los rábanos se cultivan al aire libre. Una de las ventajas a la hora de plantar rábanos es que en relación con el clima y la temperatura no es demasiado exigente, a la vez que presenta una excelente resistencia al frío. Además, se adapta sin problemas a casi cualquier tipo de suelo, pero siempre es importante tener en cuenta que se beneficiará más en aquellos suelos ricos en estiércol o abono compuesto, lo que es importante es que el suelo drene bien, evitando que se acumule un exceso de agua ^{19 (p12)}.

Al rábano se le aprecia mucho en el ámbito culinario, especialmente en Asia, sin embargo, también se le han atribuido diversos usos terapéuticos, tal vez por la cantidad de componentes que posee, entre ellos: carbohidratos, fibra, grasas, proteínas, tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B3, vitamina C, vitamina K, calcio, hierro, magnesio, fósforo, potasio, sodio, zinc, etc. ^{18 (p14)}.

Entre las propiedades terapéuticas destacan el alivio de: disquinesias biliares, colecistitis, hepatitis, cirrosis, anorexia, dispepsias hiposecretoras, bronquitis, enfisema, asma, faringitis, sinusitis, gripe, resfriados, cistitis, litiasis. Además, se le da uso externo para tratar la alopecia ^{18 (p14)}.

Sus extractos poseen actividad antibiótica. El jugo de la raíz mostró actividad antimicrobiana frente a *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella typhosa*. Los extractos etanólicos y acuosos mostraron actividad contra *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*. El extracto acuoso de la planta entera presentó actividad contra *Micrococcus luteus* y *Staphylococcus epidermidis*. El extracto acuoso de las hojas mostró un efecto antiviral contra el virus de influenza. El extracto acuoso de las raíces mostró actividad antimutagénica contra *Salmonella* TA98 y TA100 *typhimurium* ^{8 (p1)}.

Las semillas del rábano contienen un alto porcentaje de aceite. Los componentes principales son hexilopentilo, 4 – metilpentiloisotiocianato,

dimetildisulfuro, metanetiolsulfonato metilo, y 1 -metiltio- 3 - pentanona. El aceite de semillas de rábano contiene 1,21 mol de alkenilglucosinolatos totales, que consisten principalmente en progoitrin y gluconapina. Además, como dato importante es posible encontrar cuatro ácidos orgánicos principales presentes en las raíces del rábano: oxálico, málico, malónico y eritórbito. Los principales ácidos grasos en los lípidos de las semillas son erúcico, oleico, linoleico y linolénico. También se ha identificado ácido esteárico en éter de petróleo extraído de semillas *R. sativus* en polvo ^{17 (p6)}.

Algunas propiedades que se le atribuyen de acuerdo a sus componentes son ^{19 (p17)}:

- Actividad antioxidante (en el rábano rojo, gracias a pelargonidin - 3 - sophoroside - 5 - glucósido).
- Actividad antitumoral (en el rábano kaiware por el diaminotolueno 2,4 - D).
- Actividad antiviral (por el ácido caféico y pelargonidina).
- Hipotensor (sinapina extraída con metanol).
- Inhibidor de la agregación plaquetaria (en el rábano picante wasabi, por el 6 -metil- sulfanylhexyl - isotiocianato (MS- ITC)).
- Propiedades inmunológicas (por los AGPs).
- Actividad serológica (también por los AGPs).

- Estimulante de la motilidad intestinal (el extracto acuoso de rábano activa las vías muscarínicas).
- Prevención de enfermedades cardiovasculares (gracias a la disminución de lípidos, triglicéridos y colesterol por excreción fecal atribuible a catalasa y glutatión peroxidasa, los cuales aumentan en los glóbulos rojos; superóxidodismutasa (SOD) y catalasa aumentan en el hígado).
- Actividad antimicrobiana (el jugo crudo del rábano inhibe el crecimiento de *Escherichia coli*, *Pseudomonas pyocyaneus*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*).

Los péptidos ricos en cisteína (Rs-AFP1 y Rs-AFP2) aislados de *R. sativus* mostraron actividad antifúngica sustancial contra varias especies con la concentración inhibitoria mínima (MIC). Actividad antifúngica: el ácido cafeico tiene un alto grado de especificidad para los hongos filamentosos, especialmente *Helminthos poriummaydis*; el ácido ferúlico es activo contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Aspergillus niger* y *Candida albicans*. Estos ácidos muestran actividad antibacteriana frente a bacterias Gram positivas como *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*, así como también a bacterias Gram negativas como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* ^{18 (p13)}.

2.4. Método de extracción del aceite esencial de rábano

Existen diversos métodos para obtener los extractos de aceites esenciales de productos naturales de consumo común; los principales métodos son: destilación, maceración y extracción con sustancias volátiles. La elección de un método u otro, se realiza según la planta y se toma en cuenta, además, el costo tanto económico como de recursos materiales o equipo disponible ²⁰ (p30).

Por ejemplo, el método de Soxhlet con alcohol etílico al 90%, o con metanol. El Soxhlet es un aparato de vidrio en el cual la sustancia a procesar se coloca en un cartucho de extracción (de papel, tela, etc.) dentro de un percolador de vidrio. El recipiente de vidrio que contiene el cartucho está intercalado entre un matraz de destilación y un refrigerante de reflujo conectado al matraz a través del sifón hasta el refrigerante, donde se condensa y gotea sobre el material disolviendo y arrastrando las sustancias. Por este motivo no es un método de escogencia para una investigación de bajo volumen, ya que requiere de muchos recursos materiales ²¹ (p57).

En la presente investigación se utiliza el método de extracción con sustancias volátiles, pues requiere menor cantidad de materiales. Y éste, a su vez, es de bajo costo y fácil manejo.

2.5. Generalidades del sésamo

2.5.1 Taxonomía:

- Reino: *Plantae*.
- División: *Magnoliophyta*.
- Clase: *Magnoliopsida*.
- Orden: *Lamiales*.
- Familia: *Pedaliaceae* (*Labiada pedaliácea*).
- Género: *Sesamun*.
- Especie: *Indicum*.

2.5.2 Origen: India y Medio Oriente.

2.5.3 Nombre científico (o latino): *Sesamun indicum L.*

2.5.4 Nombres comunes: sésamo, ajonjolí.

2.5.5 Características:

Existen muchas variedades de sésamo, según sea la ramificación del tallo, el tipo de cápsula, y también según el tiempo de su ciclo vegetativo, el cual ronda entre los 80 y 130 días. Su tamaño también varía entre 0,75 a 3 metros ^{22 (p14-7)}.

El sésamo es una planta que se cultiva en clima cálido, como por ejemplo, en regiones tropicales^{22 (p14-7)}. Se cultiva principalmente en lugares como Asia y África. Entre los principales productores están India, Birmania, China y Sudan ^{23 (p331), 24 (p679)}.

La planta de ajonjolí presenta un tallo con una capa externa dura y una médula central de parénquima suave, que suele desaparecer cuando el tallo alcanza la adultez. Las hojas tienen una forma lobulada en la base y pueden alcanzar de entre 3 y 17 centímetros de largo y 5 centímetros de ancho, y un peciolo alargado ^{22(p16-7)}.

Es una planta con flores cuyos pétalos se encuentran unidos entre sí y pueden ser de color blanco o morado. Las flores generalmente se encuentran aisladas unas de las otras ^{22 (p16-7)}.

El fruto es el que contiene las semillas, que van de 15 a 25 aproximadamente. Las semillas son pequeñas, blancas, de aspecto aplanado y

pueden presentar un color negro, blanco, crema, gris o rojizo. Las de color claro contienen mayor cantidad de aceite ²² (p16-7).

El sésamo es una planta tradicional y muy conocida alrededor del mundo, de la cual se obtienen semillas con gran contenido lipídico y también posee un importante valor proteico, por lo que presenta gran valor nutricional ²³ (p331), ²⁵ (párr2). El sésamo no solo es utilizado como alimento, sino que también se le da un uso importante en medicina natural y alternativa, generalmente en Asia. Por otra parte, es utilizado también en la elaboración de perfumes, jabones, pintura e insecticidas ²⁴ (p679), ²⁶ (párr1); además, en el campo cosmético se ha utilizado para masajes y se dice que funciona como protector solar, previene arrugas y regenera las estrías posteriores al embarazo ²⁵ (párr12).

Las semillas de sésamo son ricas en vitaminas, entre las cuales están las vitaminas B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, inositol, colina y vitamina K. También aporta minerales como calcio, magnesio, fósforo, silicio, cinc, cobre y boro²⁵ (párr3-4). Contiene, además, proteínas que incluso pueden ser inusuales en otras plantas, como la metionina, que se encuentra en niveles bastante altos. También es posible citar las globulinas, albumina, prolamina, glutelina ²⁴ (p679). Poseen componentes bioactivos como tocoferoles, fitosteroles, resveratrol y flavonoides²⁴ (p679), así como importantes antioxidantes: sesamin, sesamolin, sesamol, sesaminol, sesamolinol y pinosinol. Todos estos compuestos fenólicos son de la

familia de los lignanos, los cuales hacen que los ácidos grasos presentes en el sésamo tengan estabilidad del oxidativa. ^{23(p331), 24 (p679), 25 (párr5).}

Además, se ha demostrado que los antioxidantes presentes en el sésamo tienen la capacidad de prolongar la vida útil de las células, por lo que pueden retardar el envejecimiento; tienen acción antiparasitaria, eliminan radicales libres, inhiben el desarrollo de células carcinogénicas, y poseen propiedades antibacterianas y antifúngicas ^{25 (párr5).}

Adicional a las propiedades antisépticas, el sésamo se ha utilizado como analgésico antiinflamatorio ^{24 (p679), 26 (párr2).}

De todos los aceites, el de sésamo, se ubica en el cuarto lugar en cuanto a concentración de grasas poliinsaturadas; por lo tanto, juega un papel muy importante en la alimentación ya que contribuye en gran medida al crecimiento y desarrollo celular y son especialmente beneficiosos para el corazón. Se piensa que las grasas poliinsaturadas también son importantes en la prevención de enfermedades como la diabetes, enfermedades cardíacas, hipertensión arterial, artritis y enfermedades autoinmunes ^{27 (párr2).} También se le ha atribuido el ser alcalinizante de la sangre, energético, mineralizante, reconstituyente muscular y nervioso, potenciador de la memoria y de las facultades intelectuales; protector circulatorio y laxante ^{25 (párr7).}

En un estudio realizado en el 2008, se demostró que el aceite de sésamo puede remover considerablemente la cantidad de bacterias presentes en la boca porque las atrapa junto a sus toxinas, y además tiene la capacidad de reducir el crecimiento y la adhesión bacteriana. Después de 40 días de someterse a la acción del aceite de sésamo, se observó que el conteo bacteriano en los individuos involucrados en el estudio se redujo en un 20% y por tanto, la susceptibilidad a la caries dental disminuyó considerablemente ²⁷ (p64-5).

Tras los resultados en un estudio comparativo en el 2009, se observó que distintos extractos obtenidos de las plantas de sésamo tienen actividad antimicrobiana sobre distintos tipos de microorganismos ⁹(p586-7).

El extracto etanólico actúa significativamente contra el *Streptococcus pneumoniae* y la *Candida albicans*. El extracto metanólico posee una acción moderada en contra de los *Staphylococcus aureus*. Un extracto acuoso del sésamo, por su parte, es capaz de actuar de manera moderada sobre la *C. albicans* ⁹ (p586-7).

También se ha demostrado que si se combinan los extractos etanólicos de dos especies de sésamo (*Sesamum radiatum* y *Sesamum indicum*) se logra una acción fuerte contra *S. pneumoniae* y moderada contra *C. albicans*. Por otro lado,

la combinación de los extractos metanólicos combate a los *S. aureus* y a la *C. albicans*. Al combinar los extractos acuosos de ambas especies se obtiene un poderoso efecto inhibitorio contra los *S. aureus* y los *S. pneumoniae*, aunque también actúa de manera moderada contra la *C. albicans*^{9 (p586-7)}.

2.6. Métodos de extracción del aceite de sésamo

Existen diversos aceites esenciales que se pueden encontrar en aproximadamente 60 plantas diferentes.

Los aceites esenciales pueden extraerse de distintas partes de una planta, entre ellos están las hojas, los tallos, en los frutos y en su pericarpio, en las raíces, en las flores y en las semillas^{28 (p2)}, como es el caso del sésamo, de lo cual trata el presente trabajo.

El proceso convencional de extracción incluye la limpieza, asar las semillas, molerlas, cocinarlas y prensarlas, sin pasar por un proceso de refinado. Se debe tener cuidado con el asado del sésamo ya que de la temperatura utilizada depende la estabilidad del óxido del aceite. A mayor temperatura, más fuerte es el sabor del aceite resultante, pero de menor calidad^{23 (p 332)}.

Según Abou-Gharbia et al., el aceite extraído de las semillas de sésamo crudo posee mucha más estabilidad que aquel obtenido de las semillas que fueron previamente tratadas con métodos y temperaturas diferentes ²³ (p333-4).

Algunos ejemplos de los métodos utilizados son: extracción con N-hexano (procedimiento clásico) ²⁶ (p680), ²⁹ (p57), extracción acuosa enzimáticamente asistida²⁴ (p680), extracción de fluidos supercríticos²⁹ (p57) y extracción por medio de solventes volátiles²⁸ (p3) (usado en la presente investigación).

CAPÍTULO 3. MÉTODOS DE TRABAJO

Los aceites esenciales son sustancias aromáticas naturales presentes en diferentes partes de las plantas. Para extraerlos existen diversos medios y la escogencia del método depende de la finalidad para la que son requeridos y si existe un interés particular por la concentración y/o recuperación de algún compuesto en especial ^{30 (p9)}.

En la presente investigación se utilizó la extracción con sustancias volátiles, ya que este es el método de escogencia en pruebas de laboratorio. Con este procedimiento se tiene buen control de todo el proceso; sin embargo, no es recomendable en el nivel industrial porque resulta económicamente costoso, debido al alto valor comercial de los solventes y además, por los volúmenes, no se tiene el mismo control, lo que da como resultado esencias mezcladas con otras sustancias, es decir aceites impuros ^{30(p9)}.

Para este método de extracción con sustancias volátiles se pueden utilizar solventes como alcohol o cloroformo, entre otros. En nuestra investigación se utilizó alcohol.

Las muestras secas y trituradas o molidas se sumergen en el solvente, que extrae la esencia, además de otros componentes como ceras y grasas.

3.1. Extracción del aceite esencial de rábano

Si bien es cierto que se obtiene más eficazmente el aceite de rábano de sus semillas, en Costa Rica es difícil encontrarlas en su estado natural, ya que en los comercios dedicados a la venta de este producto solo se encuentra la semilla curada con pesticidas, lo cual entorpece el estudio, pues probablemente arroje resultados positivos (al eliminar o controlar las bacterias) de forma errónea. Por ello, se extrajo el aceite esencial de rábano de su cáscara mediante el siguiente procedimiento:

1. Compra del producto: esta se realizó en dos verdulerías diferentes, ambas en el sector de Coronado, en San José, Costa Rica, en el mes de Julio; el producto estaba fresco y con sus tallos y hojas.
2. Remoción de la cáscara: luego de remover tallos y hojas, se procedió a remover la cáscara con cuchillo tradicional de cocina, sin dejar parte del fruto en la cáscara.

3. Secado de la cáscara en estufa de CIPRONA. Esto se efectuó durante 4 días, a 45°C de temperatura. La estufa proporciona calor y sistema de ventilación (ver figuras 1 y 2).
4. Trituración de la muestra seca en licuadora a máxima velocidad (ver figura 3), con el fin de obtener polvo para luego añadir el solvente e iniciar las extracciones (ver figura 4). Se realizaron tres extracciones con alcohol etílico al 95% (ver figuras 5, 6 y 7).
5. Primera extracción: 120 mL de alcohol etílico al 95% se vacían sobre la cáscara triturada, esta mezcla se coloca en el ultrasónico con agua destilada durante 20 minutos. Pasado ese tiempo se filtra en un embudo con filtro rápido (papel).
6. Segunda extracción: se realiza el mismo procedimiento, con la única diferencia que la cantidad de alcohol disminuye a 100 mL.
7. Tercera extracción: una vez más se repite el mismo procedimiento, pero en esta ocasión con solo 80 mL de alcohol.
8. El siguiente paso fue evaporar el extracto etílico en la máquina al vacío (rotavapor), procedimiento que tardó 65 minutos (ver figura 8).

9. La muestra obtenida se llevó a un vial para sacar cálculos de su peso total y para su almacenamiento en frío (ver figura 9).

- Peso inicial del producto (rábano): 4,2 kilogramos.
- Peso de las cáscaras: 1478 gramos.
- Peso de las cáscaras luego del proceso de secado en la estufa: 72 gramos.
- Peso de la muestra final obtenida (aceite esencial): 1,531 gramos (peso del vial 28,790g, peso de la muestra en el vial 30,321g).

3.2. Extracción del aceite de sésamo

Este procedimiento se realizó a partir de las semillas, ya que son ricas en aceite. Se siguieron los siguientes pasos:

1. Se averiguó el peso total de las semillas a utilizar, el cual fue de 97,6 g. Luego se trituraron para lograr una mejor extracción del aceite (ver figura 10)

2. El polvo molido se colocó en beaker de laboratorio para sumergirlas en aproximadamente 200 mL. de etanol de 95°, o hasta que el solvente sobrepasara el contenido de sésamo (ver figura 11).
3. Para lograr una extracción más eficiente del aceite de ajonjolí, se procedió a colocar el recipiente con la mezcla en un ultrasónico durante 20 minutos, ciclo que se repitió 3 veces, para 3 extracciones (ver figura 12).
4. Seguido de esto, se filtró el contenido resultante por medio de un filtro rápido, y se recolectó en un Erlenmeyer (ver figura 13).
5. Para las próximas extracciones se agregó 100 mL de etanol a la mezcla en cada una. Al terminar la tercera extracción, el contenido resultante se coloca en fracciones en un balón, para ser llevado al rotavapor a aproximadamente 47,5°C hasta que se evapore todo el disolvente (ver figura 14).
6. Una vez que se obtuvo el aceite extraído, se pasó a un vial para su almacenamiento, se rotuló, se envolvió el vial en papel aluminio y se refrigeró para evitar que la luz y la temperatura provocarían daño o

alteración de la muestra. El total del aceite obtenido fue 3 mL (ver figura 15).

3.3. Pruebas *in vitro*

Se realizaron extracciones etílicas (utilizando alcohol de 95° como solvente) con el fin de comparar en el Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica, los halos inhibitorios que presentaron las extracciones, con el halo inhibitorio arrojado por la sustancia control, que en este caso se trató del gluconato de clorhexidina al 0,12%.

Luego de obtener las extracciones de los aceites esenciales se procedió a llevar ambas muestras a la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica, para su correspondiente análisis, el cual se llevó a cabo por medio de varias diluciones seriadas en alcohol mezcla 80/20 (80=alcohol al 95%, 20=agua). Las diluciones seriadas fueron: $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{16}$, $\frac{1}{32}$ y $\frac{1}{64}$.

Para hacer tales comparaciones, se utilizaron las dos sustancias en las diferentes concentraciones.

3.4. Método de difusión para el estudio de las muestras

Para analizar la actividad antibacteriana de las muestras de las plantas en estudio, se utilizó el método de difusión en disco, que consiste en obtener un cultivo de la cepa bacteriana *S. mutans* costarricense, en una placa de Petri con un agar sangre o de Mueller-Hinton. Luego se prepararon los pozos donde se colocó la sustancia antiséptica a estudiar en las placas de Petri, para evaluar su difusión ^{31 (p1751), 32 (p282)}.

El diámetro del pozo que se utilizó en las placas es de 6mm, el cual representa el tamaño mínimo del halo para cada una de las sustancias a estudiar. Para lograr la difusión de las sustancias alrededor de los pozos, basta con mantener las placas de Petri a temperatura ambiente de 30 minutos a 1 hora. Luego de esto, para leer los resultados mostrados en las cajas de Petri, se debió esperar un periodo de incubación de las placas de 24 horas durante las cuales se mantuvieron a una temperatura de 35 °C y con una concentración de CO₂ de 5% ^{32 (p283-284)}. La presión a la que estuvo sometida es desconocida.

Se observó el crecimiento bacteriano alrededor del agar y se midió el halo de inhibición de la sustancia depositada en los pozos, producto de la difusión de cada uno de los extractos de rábano y sésamo en forma independiente. Posteriormente estos fueron comparados contra el patrón producido por el

gluconato de clorhexidina al 0,12%, para determinar el diámetro del halo de inhibición que produjeron ³¹ (p1751).

Para que sea considerado positivo el resultado, debía formarse una zona de inhibición de crecimiento de las bacterias alrededor de los pozos de la sustancia a prueba. Ésta es la zona que se debe medir para determinar el diámetro del halo de inhibición de la sustancia. Al ser esta una prueba cualitativa y no cuantitativa, con los resultados sólo es posible determinar si la sustancia estudiada presenta o no efectividad o actividad antiséptica, mas no se puede clasificar su poder antiséptico o el tamaño de su halo de inhibición con base en parámetros cuantitativos (bajo, medio o alto) ³² (p284).

CAPÍTULO 4. DESARROLLO

4.1. Resultados

El halo inhibitorio del gluconato de clorhexidina fue mayor al obtenido con las sustancias estudiadas en todas las concentraciones analizadas. Para la prueba de las sustancias en su estado puro, el gluconato de clorhexidina fue mayor que ambos, tanto del rábano como del sésamo, en 22 mm.

En diluciones de 50%, la clorhexidina fue superior al rábano y al sésamo en 20,5 mm. Y el halo de inhibición en diluciones de 25% fue mayor en 19 mm para la clorhexidina, en comparación con el rábano y el sésamo.

En las pruebas de laboratorio realizadas con el extracto etanólico de rábano en diferentes concentraciones, los resultados muestran que no hay efectividad contra las cepas de *S. mutans* costarricense, comparado con el gluconato de clorhexidina, ya que el rábano no presentó difusión alguna en el agar ni tampoco hubo inhibición del crecimiento del cultivo.

Según muestra el gráfico 1, en las tres concentraciones en las que se analizó el extracto de rábano se obtuvo un halo inhibitorio de 6 mm, el cual es un resultado negativo, ya que no hubo una inhibición en el crecimiento de la cepa de

S. mutans costarricense puesto que el diámetro de los pozos era de 6mm inicialmente. Esto, a diferencia del gluconato de clorhexidina, que mostró un halo superior a los 25 milímetros en el menor de los casos, es decir, a una concentración de 25 %.

Esto es un indicativo de que el extracto de rábano no mostró efecto antibacteriano contra *S. mutans* costarricense, lo cual es requisito necesario para ser considerado parte de los componentes principales en la fabricación de un enjuague bucodental alternativo.

En el caso del sésamo, en las tres concentraciones utilizadas, 100%, 50% y 25%, se obtuvo el mínimo de actividad antiséptica pues el halo inhibitorio arrojado en las pruebas realizadas en el laboratorio es de 6 mm para cualquiera de las concentraciones. Lo cual significa que, comparado con el gluconato de clorhexidina, el aceite esencial del sésamo no representa una alternativa viable para el uso de este tipo de extracto como sustituto natural en la elaboración de productos que tengan el objetivo de atacar comunidades bacterianas como lo es la cepa del *S. mutans* costarricense.

4.2. Conclusiones

Se investigó sobre las propiedades de las plantas utilizadas y se encontró que ambas poseen actividad antimicrobiana contra organismos presentes en cavidad bucodental. En el caso del sésamo, se menciona su poder antiséptico y antiinflamatorio y también se habla del poder antibacteriano que posee el rábano.

Las diferentes concentraciones de los extractos proyectaron un halo inhibitorio mucho menor al del gluconato de clorhexidina, lo cual significa que ninguno de los extractos presenta efectividad alguna comparados con el gluconato de clorhexidina que sí exhibe halos inhibitorios en cada una de las concentraciones.

Al evaluar la efectividad del aceite esencial de *Raphanus sativus* y *Sesamun indicum L.* en el laboratorio de microbiología, no se hallaron resultados positivos para la formulación de enjuagues bucales que pudieran ser utilizados para el control del biofilme dental. Tanto el aceite esencial de sésamo como el de rábano, por el método de extracción de sustancias volátiles, en este caso etanol de 95°, presentaron una actividad antibacteriana mínima.

Al analizar las propiedades y características de ambos productos, en la práctica, no se encontró que presenten suficiente actividad antibacteriana contra *S. mutans* costarricense para ser considerados alternativas para la elaboración de

enjuagues bucales que tengan como objetivo controlar el crecimiento y proliferación de este tipo de bacterias.

4.3. Discusión

Para la presente investigación, se realizó la extracción de aceite esencial de dos plantas encontradas en la naturaleza: el sésamo y el rábano.

En el caso del rábano se utilizó la cáscara, ya que, aunque en la literatura se reportan mejores resultados con la semilla, ésta es difícil de conseguir en su estado natural, esto porque por lo general se comercializa en su forma curada (con fertilizantes e insecticidas). En lo referente al sésamo, la extracción se obtuvo a partir de semillas secas.

Con respecto al extracto del rábano, se reporta en diferentes fuentes, que tiene ciertas propiedades que le confieren poder antimicrobiano, por ejemplo: Paivan et al encontró efectividad antimicrobiana contra *S. mutans* y *Candida albicans*^{33 (p6)}. Por tal motivo, no se excluye el poder antimicrobiano que posee el rábano, ya que este se podría encontrar a partir de los extractos de otra parte de la planta, tal como las semillas.

A pesar que las pruebas realizadas en el laboratorio con los extractos etanólicos de sésamo y rábano no arrojaron resultados positivos al ser comparados con el gluconato de clorhexidina, existen estudios que avalan su poder antimicrobiano, por ejemplo; un estudio de Ahmed et al. en el 2009, en el que se utilizan distintas variedades de plantas de sésamo como lo son el *S. radiatum* y el *S. indicum* y distintas partes de las plantas, como por ejemplo las hojas, las cuales después de un proceso de secado, se utilizan para obtener diferentes extractos al utilizar metanol de 80° y etanol de 98°, además de la obtención de extractos acuosos de cada una de las variedades para estudiar sus efectos contra microorganismos como el *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y la *Candida albicans* ^{9(p586-7)}.

Cada extracto, por su parte, presentó cierta actividad contra cada uno de estos microorganismos, pero a la hora de combinarlos se muestra un gran incremento en el potencial de acción antiséptica contra los diferentes tipos de microorganismos mencionados, según las distintas combinaciones de dichos extractos ^{9(p586-7)}.

Además, es importante considerar el hecho que es posible hallar flavonoides en la planta de sésamo como uno de sus componentes ^{27 (p679)}. Según

la literatura, los flavonoides también se pueden encontrar en el rábano y estos poseen, además de propiedades antioxidantes, actividad bactericida y antifúngica, y se pueden encontrar en las flores y frutos de las plantas, las verduras y las semillas, pero se ubican principalmente en las hojas y las partes externas ⁴ (p273).

Por lo tanto, los resultados obtenidos en estas pruebas de laboratorio no son suficientes para descartar las propiedades antisépticas de las plantas estudiadas en esta investigación, ya que esto depende de gran cantidad de variables que pueden alterar los resultados arrojados, como lo son las distintas especies y partes de las plantas que pueden ser utilizadas para obtener los extractos, así como los diferentes métodos de extracción que pueden ser empleados, además del manejo y la manipulación, transporte, almacenamiento y el tiempo que se esperó para que la muestra fuera utilizada y estudiada. Por esta razón, a pesar que en este estudio se observó que los aceites de las plantas de sésamo y rábano no tienen acción contra el *S. mutans* costarricense, es importante tomar en cuenta futuras investigaciones sobre las propiedades de estas plantas, aplicadas a otros microorganismos involucrados en las enfermedades bucodentales.

4.4. Recomendaciones

Dado que el aceite esencial de rábano que fue extraído de la cáscara no evidenció poder antimicrobiano, se recomienda realizar dicha extracción con la semilla del producto, para lo cual se debe prever que es difícil encontrarla en forma natural, o bien, hacer las pruebas con el fruto entero.

A pesar del resultado obtenido para el extracto de semillas procesadas de sésamo sobre una cepa de *S. mutans* costarricense, se recomienda realizar otras pruebas en las cuales se utilicen distintas partes de la planta para comparar la actividad de los extractos.

Se recomienda obtener muestras utilizando otros métodos de extracción para comparar la eficacia de los extractos según el método. Por otra parte, también se puede considerar utilizar otras partes secas de las plantas, así como elementos recién cultivados.

Por último, en el futuro, el realizar pruebas microbiológicas utilizando distintas cepas de microorganismos es una posibilidad, con el objetivo de determinar si entre otras especies se puede obtener el beneficio antiséptico de ambas plantas.

CAPÍTULO 5. PARTE FINAL

5.1. Cronograma

Número de Sesión	Fecha	Temas a Desarrollar
Semana	10 al 14 marzo	<p>Entrega y lectura del programa de curso. Motivación para la investigación. Objetivos de este Seminario de Graduación. Asignación de deberes. Inducción al uso de Mediación Virtual. El cuaderno de bitácora como registro de la experiencia de investigación: agendas de trabajo, avances en reuniones, ficheros bibliográficos, anotaciones, los obstáculos, las dificultades y los factores facilitadores de las actividades. El resguardo de las copias de información: el disco duro externo, la llave maya y la red internet (correos electrónicos y contenedores). Word y Excel: trucos y secretos en el procesador de texto y la base de datos. ESQUEMA PARA EL PLAN DE TRABAJO DE LA INVESTIGACIÓN: resultados esperados-actividades-aspectos a considerar-duración-fecha de inicio-fecha de terminación-responsable-recursos. Importancia de la planificación del trabajo investigativo: lo previsto e imprevisto. El diagrama de Gantt en la planificación de proyectos: tareas (predecesora, sucesora, resumen), trabajo, duración, hito, calendario, simbología (tarea, división, progreso, hito, resumen, tarea resumida, división resumida, hito resumido, progreso resumido, resumen del proyecto) Herramientas para la elaboración del diagrama de Gantt: Excel y Open Project.</p> <p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Creación del diagrama de Gantt para el Seminario de Graduación (2 días). 2. Elaboración de un documento/folleto/tríptico explicando cómo se construyen las referencias

		<p>bibliográficas siguiendo los formatos de la American Psychological Association (consultar en línea) y el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (consultar en revista Odontos). Incluir: generalidades, libros (con 1 autor, 2 o más autores, autor corporativo, sin autor, edición revisada), revistas (con 1 autor, 2 o más autores, autor corporativo, sin autor, sin volumen, en prensa), periódicos (con autor, sin autor, periódico mensual), entrevista personal, enciclopedia o diccionario, artículo de enciclopedia, tesis y disertaciones, filme, medio (cintas de video, cintas de audio, diapositivas, gráficas, trabajos artísticos, grabación de casete), información en la red, medios electrónicos (correspondencia electrónica, mensajes electrónicos, listas de discusión, CD-ROM, cinta de datos electrónica, cinta en cartucho y programa de computadora).</p> <p>3. Elaboración de un folleto o tríptico con las reglas para insertar referencias bibliográficas en un documento y el uso correcto de las abreviaturas relacionadas con la técnica de referencia.</p> <p>4. Realizar las lecturas:</p> <ul style="list-style-type: none"> * ¿Qué es la Odontología basada en evidencia? * Cuestionamientos bioéticos en odontología. * Bioética e investigación en odontología. * Equipo de salud: el trabajo multidisciplinario en investigaciones del área de la salud
Semana	10 al 14 marzo	<p>Entrega y lectura del programa de curso. Motivación para la investigación. Objetivos de este Seminario de Graduación. Asignación deberes. Inducción al uso de Mediación Virtual. El cuaderno de bitácora como registro de la experiencia de investigación: agendas de trabajo, avances en reuniones, ficheros bibliográficos, anotaciones, los obstáculos, las dificultades y los factores facilitadores de las actividades. El resguardo de las copias de información: el disco duro externo, la llave maya y la red internet (correos electrónicos y contenedores). Word y Excel: trucos y secretos en el procesador de</p>

		<p>texto y la base de datos.</p> <p>ESQUEMA PARA EL PLAN DE TRABAJO DE LA INVESTIGACIÓN: resultados esperados-actividades-aspectos a considerar-duración-fecha de inicio-fecha de terminación-responsable-recursos.</p> <p>Importancia de la planificación del trabajo investigativo: lo previsto e imprevisto.</p> <p>El diagrama de Gantt en la planificación de proyectos: tareas (predecesora, sucesora, resumen), trabajo, duración, hito, calendario, simbología (tarea, división, progreso, hito, resumen, tarea resumida, división resumida, hito resumido, progreso resumido, resumen del proyecto).</p> <p>Herramientas para la elaboración del diagrama de Gantt: Excel y Open Project.</p> <p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Creación del diagrama de Gantt para el Seminario de Graduación (2 días). 2. Elaboración de un documento/folleto/tríptico explicando cómo se construyen las referencias bibliográficas con los formatos de la American Psychological Association (consultar en línea) y el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (consultar en revista Odontos). Incluir: generalidades, libros (con 1 autor, 2 o más autores, autor corporativo, sin autor, edición revisada), revistas (con 1 autor, 2 o más autores, autor corporativo, sin autor, sin volumen, en prensa), periódicos (con autor, sin autor, periódico mensual), entrevista personal, enciclopedia o diccionario, artículo de enciclopedia, tesis y disertaciones, filme, medio (cintas de video, cintas de audio, diapositivas, gráficas, trabajos artísticos, grabación de casete), información en la red, medios electrónicos (correspondencia electrónica, mensajes electrónicos, listas de discusión, CD-ROM, cinta de datos electrónica, cinta en cartucho y programa de computadora). 3. Elaboración de un folleto o tríptico con las reglas para insertar referencias bibliográficas en un documento y el uso correcto de las abreviaturas relacionadas con la técnica de referencia.
--	--	--

		<p>4. Realizar las lecturas:</p> <ul style="list-style-type: none"> * ¿Qué es la Odontología basada en evidencia? * Cuestionamientos bioéticos en odontología. * Bioética e investigación en odontología. * Equipo de salud: el trabajo multidisciplinario en investigaciones del área de la salud
Semana	17 al 21 marzo	<p>TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN</p> <p><u>I. PARTE INTRODUCTORIA</u></p> <p>JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN (propósitos, aplicabilidad).</p> <p>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA (justificación científica).</p> <p>USO DE LOS RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN (propósitos, aplicabilidad).</p> <p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Entrega del diagrama de Gantt para el Seminario de Graduación a las profesoras (3 días). 2. Elaboración del título, la justificación, el planteamiento del problema y uso de los resultados de la investigación (3 días).
Semana	24 al 28 marzo	<p>Exposición de la información relacionada a las indicaciones para la construcción e inserción de referencias bibliográficas y uso de abreviaturas.</p> <p>Discusión de las lecturas asignadas el 09 de marzo.</p> <p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Correcciones al diagrama de Gantt para el Seminario de Graduación a las profesoras (2 días) 2. Entrega de la elaboración del título, la justificación, el planteamiento del problema y uso de los resultados de la investigación a las profesoras. (2 días)
Semana	31 de marzo al 4 de abril	<p>FUNDAMENTO TEÓRICO/ANTECEDENTES SOBRE EL TEMA (argumentación, respuestas posibles, hipótesis).</p> <p>Detalles a considerar durante la revisión bibliográfica: reconocimiento de fuentes confiables, uso de los servicios del sistema de bibliotecas y manejo correcto de los motores de búsqueda por internet.</p> <p>OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN (general y específicos)</p> <p>Cómo se estructuran los objetivos de investigación:</p>

		<p>el qué, el cómo y el para qué.</p> <p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Corrección al título, la justificación, el planteamiento del problema y uso de los resultados de la investigación (2 días). 2. Elaboración del fundamento teórico/antecedentes sobre el tema y de los objetivos de la investigación (2 semanas)
Semana	7 al 11 de abril	<p>Importancia del registro fotográfico y de video en el proceso de investigación.</p> <p>Manejo de los insumos, creación y gestión de carpetas: .doc,.img,, .sonido, .video: numeración, orden, omisión de caracteres especiales.</p> <p>Tarea</p> <p>Entrega del fundamento teórico/antecedentes sobre el tema (I parte) y de los objetivos de la investigación a las profesoras (2 días).</p>
Semana	14 al 18 de abril	<p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Correcciones al fundamento teórico/antecedentes sobre el tema (I parte) y de los objetivos de la investigación (2 días). 2. Entrega del fundamento teórico/antecedentes sobre el tema (II parte) a las profesoras (2 días).
Semana	21 al 25 de abril	<p>Elementos de la Guía OPS para escribir un protocolo/una propuesta de investigación.</p> <p><u>II. MÉTODOS DEL TRABAJO</u></p> <p>Definición operacional de las variables: objetivo específico-temas por desarrollar-variable-definición conceptual-definición operacional-definición instrumental-escala de medición-variable por tipo de categoría-tipo de variable.</p> <p>Tipo de estudio.</p> <p>Diseño general del estudio.</p> <p>Universo de estudio.</p> <p>Selección y tamaño de la muestra: técnicas de muestreo.</p> <p>Unidad de análisis.</p> <p>Unidad de observación.</p> <p>Criterios de inclusión.</p> <p>Criterios de exclusión.</p> <p>Procedimientos para la recolección de información.</p> <p>Instrumentos a utilizar en la recolección de la</p>

		<p>información: definición y diseño. Métodos para el control y la calidad de los datos. Establecimiento de protocolos para procedimientos con las sustancias naturales y los cultivos de microorganismos. Calibración práctica. Materiales usados en el levantamiento de los datos. Procedimientos para garantizar aspectos éticos en la investigación.</p> <p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Correcciones al fundamento teórico/antecedentes sobre el tema (II parte) (2 días). 2. Lectura tipos de estudio y diseño de las investigación en salud BUSCAR Y ESCANEAR EN LA PARTE DE ESTADÍSTICA Y EPIDEMIOLOGÍA. 3. Elaboración de la II. MÉTODOS DE TRABAJO de la Memoria del Seminario de Investigación (1 semana)
Semana	28 de abril al 2 de mayo	<p>Tarea</p> <p>Entrega de la II. MÉTODOS DE TRABAJO de la Memoria del Seminario de Investigación a las profesoras (3 días)</p>
Semana	5 al 9 de mayo	<p>Importancia, utilidad y características de los gráficos y las tablas: tipos, usos y formatos apropiados. PLAN DE ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS Métodos de análisis de los datos según tipo de variable. Modelos de análisis de los datos según tipo de variable.</p> <p>Tareas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Correcciones a la II. MÉTODOS DE TRABAJO de la Memoria del Seminario de Investigación (2 días). 2. Definición de los métodos y modelos estadísticos para el análisis de datos según el tipo de variable, diseño de tablas y gráficos para la presentación de la información (2 días).
Semana	12 al 16 de mayo	<p>Tarea</p> <p>Entrega de la definición de los métodos y modelos estadísticos para el análisis de datos según el tipo de variable, diseño de tablas y gráficos para la presentación de la información a las profesoras (3 días)</p>

Semana	19 al 23 de mayo	Herramientas para la creación de bases de datos y análisis de los insumos: Epi Info 7, Excel, FileMaker u otros. El manejo correcto de la base de datos: la importancia en la definición de las características de cada grupo de datos para la codificación y el valor de cada registro. Tareas 1. Correcciones al diseño de tablas y gráficos para el análisis de la información (2 días). 2. Construcción de la matriz para base de datos (1.5 semanas)
Semana	26 al 30 de mayo	Tarea Entrega de la matriz para base de datos a las profesoras (3 días).
Semana	2 al 6 de junio	Tarea Correcciones a la matriz para la base de datos (2 días).
Semana	9 al 13 de junio	LEVANTAMIENTO DE DATOS Tareas (4 semanas) Obtención de las sustancias naturales. Traslado de las sustancias naturales. Obtención de las muestras microbiológicas. Preparación de cultivos microbiológicos.
Semana	16 al 20 de junio	Tarea Aplicación de las sustancias naturales en los cultivos microbiológicos (1 semana).
Semana	23 al 26 junio	Tarea Obtención de datos (4 semanas).
Semana	30 de junio al 4 de julio	Tareas (1 semana). 1. CODIFICACIÓN DE DATOS 2. TABULACIÓN DE DATOS
Sesión	7 al 11 de julio	Tarea PROCESAMIENTO DE DATOS (2 semanas).
Semana	14 al 18 de julio	<u>III. DESARROLLO</u> ANÁLISIS DE RESULTADOS CONCLUSIONES (deben ser concordantes con lo planteado en el objetivo general y los objetivos específicos de la investigación). RECOMENDACIONES Tarea Elaboración de la III. DESARROLLO de la Memoria

		del Seminario de Investigación (3 semanas).
Sesión	21 al 25 de julio	<p><u>IV. PARTE FINAL</u> CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES DEL SEMINARIO: fecha-actividad-recursos-responsables-evaluación del Director(a)-evaluación del grupo. FACTORES FACILITADORES/OBSTÁCULOS Y DIFICULTADES BITÁCORA (experiencia personal de acuerdo con el Seminario). GLOSARIO (optativo). BIBLIOGRAFÍA (igual que la revista Odovtos). ANEXOS/APÉNDICES (protocolos, instrumentos de recolección de la información, ampliación de métodos y procedimientos, diseño de tablas y gráficos, etc.). Anexos y apéndices ¿cuál es realmente la diferencia? RESUMEN DE LA INVESTIGACIÓN</p> <p>Buenas prácticas para la: * Elaboración de índices (general, de ilustraciones, de cuadros, de abreviaturas). * Redacción de derechos de propiedad intelectual de la Memoria del Seminario de Graduación. * Redacción de los reconocimientos.</p> <p>Tareas 1. Elaboración de la IV PARTE FINAL de la Memoria del Seminario de Investigación (1 semana). 2. ELABORACIÓN DEL PRIMER BORRADOR DE LA MEMORIA DEL SEMINARIO (según el Formato Memoria de Seminarios 2012 del Programa Macro de Investigación) (1 semana).</p>
Semana	4 de noviembre	Tarea ENTREGA DEL BORRADOR DE LA MEMORIA.
Semana	7 al 18 de noviembre	DEVOLUCIÓN PARA CORRECCIONES.
Semana	25 de noviembre	EXHIBICIÓN DE POSTERS EN LOS PASILLOS DE LA FACULTAD.
Semana	28 de noviembre	Tarea ENTREGA DE CD Y MEMORIA EMPASTADA.
Semana	5 de diciembre	EXPOSICIÓN DE LOS TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN (de 8 a 12 md).

Semana	6 de diciembre	EXPOSICIÓN DE LOS TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN (de 1 a 4 pm).
Semana	7 de diciembre	ENTREGA DE LOS CERTIFICADOS DE PARTICIPACIÓN. Cuidado de la investigación.

5.2. Factores facilitadores/Obstáculos y dificultades

Como factores facilitadores, cabe mencionar el hecho que la investigación fue llevada a cabo en una institución de renombre (Universidad de Costa Rica), que ofrece las facilidades a sus estudiantes para realizar todos los procesos de una investigación, como CIPRONA y la Sección de Bacteriología de la Facultad de Microbiología, con profesionales altamente capacitados.

Uno de los obstáculos presentados durante la investigación se dio durante el proceso de conseguir la materia prima para la extracción de aceite esencial de rábano, que según la literatura se obtienen mejores resultados cuando el proceso es llevado a cabo a partir de las semillas, sin embargo, estas se comercializan en el país de forma curada, por lo que no era recomendable utilizarlas para la investigación.

Otro obstáculo importante es el de haber obtenido el extracto del aceite esencial de sésamo solamente de las semillas y no contar con otras partes de la planta, o diferentes especies para probar su efectividad. Además, cabe destacar el

hecho de haber utilizado las semillas previamente procesadas y empacadas industrialmente y que no hayan sido semillas frescas, lo cual podría ser un factor importante a considerar.

Por su parte, los procesos de manipulación, transporte y almacenamiento de las muestras, podrían no haber sido del todo los más óptimos, lo que pudo haber afectado sus características y propiedades para el análisis.

5.3. Bitácora

FECHA	ACTIVIDAD
14 marzo	Primera reunión con la Dra. Natalia Ballesterro (Priscila Segura).
4 abril	Envío del primer avance de Vainilla.
11 abril	Se recibe la primera revisión del Marco teórico de la Vainilla.
26 abril	Envío de avance de Sésamo.
4 mayo	Se cambia de vainilla a Rábano.
10 mayo	Envío del primer avance de Rábano.
17 mayo	Se recibe revisión.
29 mayo	Envío de avance de Sésamo.
30 mayo	Se recibe revisión.
2 junio	Se recibe revisión.
4 junio	Envío de avance de Sésamo.
7 junio	Se recibe revisión.
14 junio	Envío de otro avance.
20 junio	Solicitud de cita en CIPRONA para realizar la extracción del aceite esencial de rábano.
27 junio	Envío de avance.
28 junio	Se recibe revisiones.
24 junio	En CIPRONA cancelan la cita.
4 julio	Se solicita cita de nuevo en CIPRONA para realizar la extracción del aceite esencial de rábano.
11 Julio	CIPRONA contesta el correo y da cita para el 18 de Julio.
12 julio	Se envía correo a CIPRONA para solicitud de cita para la

	extracción del sésamo, pero no se recibe respuesta.
13 Julio	Se llevan las Cáscaras de rábano a CIPRONA para poner a secar en la estufa.
18 julio	Se hace la extracción del aceite esencial de rábano.
18 julio	Se vuelve a enviar correo a CIPRONA para solicitud de cita para extracción del sésamo.
19 Julio	Se solicita cita por correo electrónico a don Norman Rojas de microbiología.
26 julio	Se solicita cita por mensaje de texto a don Norman Rojas de microbiología.
3 agosto	Se lleva el aceite esencial de rábano a microbiología para su análisis.
14 agosto	Se envía avance del escrito.
15 agosto	Se piden los resultados a micro por correo electrónico y mensaje de texto y se envía avance del escrito.
18 agosto	Se reciben los resultados de microbiología.
19 agosto	Se toman las fotos en microbiología y se envía avance del escrito
19 agosto	Se recibe revisión.
8 setiembre	Envío de avance del escrito.
16 setiembre	Envío de avance.
17 setiembre	Envío de avance.
19 setiembre	Se recibe revisión.
25 setiembre	Envío de avance.
29 setiembre	Se recibe revisión.
9 octubre	Envío de avance.
10 octubre	Se recibe revisión.
16 octubre	Envío de correcciones realizadas.
19 octubre	Se recibe revisión.
21 octubre	Se recibe revisión.
25 octubre	Se envía correcciones realizadas.
26 octubre	Se recibe revisión.
1 noviembre	Se envía correcciones realizadas.
5 noviembre	Se recibe revisión.
6 noviembre	Se envía correcciones realizadas.
6 noviembre	Se recibe revisión.
7 noviembre	Se envía correcciones realizadas.

5.4. Referencias bibliográficas

1. Ureña J, Federowicz L. Efecto de los enjuagues bucales y Microbiología Oral. DMedicina.com. Salud y Bienestar. Isalud.com. [Internet]. [citado el 20 Jun 2016]. Disponible en: <http://www.isalud.com>
2. Guadrón JC. Efecto sobre la placa bacteriana de los antisépticos bucales. 2006. 22 p. Localizado en: Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer, San Salvador, El Salvador. Disponible en: <http://www.usam.edu.sv/usam/images/stories/ARTICULOSICTUSAM/Enjuagues%20bucales.pdf>
3. Chaves M. Alternativas científicas y populares para la prevención del biofilme dental. Curso de Epidemiología y ecología del biofilme dental 2016. Universidad de Costa Rica. Facultad de Odontología; 2016. 54 p.
4. Martínez S, González J, Culebras JM, Tuñón MJ. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria [Internet]. 2002 [citado el 04 Oct 2016];17(6):271-278. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>

5. Ballesteros N, Valverde G, Madrigal E, Rojas N, Romero R. Enjuagues bucodontales a partir de sustancias naturales costarricenses con propiedades antibacterianas aplicadas al control del biofilme en el año 2012. [San José]: Facultad de Odontología de la Universidad de Costa Rica; 2012. 100 p.
6. Ballesteros N, Madrigal E, Rojas N, Romero R, Flores F, Jiménez A, Shih R. Alternativas No tradicionales para el control del Biofilme Dental: Enjuagues Bucales y Desinfectantes de Cavidades. Sustancias alternativas con acción antimicrobiana para la elaboración de enjuagues bucodontales. [San José]: Facultad de Odontología de la Universidad de Costa Rica; 2014. 150 p.
7. Ballesteros N, Madrigal E, Rojas N, Romero R, Garita A, Porras G, Bermúdez S. Alternativas No Tradicionales para el Control del Biofilme Dental: Enjuagues Bucales y Desinfectantes de Cavidades. Sustancias alternativas con acción antimicrobiana para la elaboración de enjuagues bucodontales. [San José]: Facultad de Odontología de la Universidad de Costa Rica; 2013. 110 p.
8. Tsumuraya Y, Ogura K, Hashimoto Y, Mukoyama H, Yamamoto S. Arabinogalactan-proteins from primary and mature roots of Radish (*Raphanus sativus* L.). *Plant Physiol* [Internet]. 1988 [citado el 04 Oct 2016];86(1): 155-160. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16665859>

9. Ahmed T, Shittu L, Bankole MA, Shittu RK, Adesanya OA, Bankole MN, Ashiru, OA. Comparative studies of the crude extracts of sesame against some common pathogenic microorganisms. Sci Res Essay [Internet]. 2009 [citado el 27 May 2016];4(6):584-589. Disponible en: <http://www.academicjournals.org/journal/SRE/article-full-text-pdf/B6E5FBC18363>

10. Gamiño, AE; Barrios, MP; Cárdenas, LP; Anaya F, Padilla F. Flora Normal, Probióticos y Salud Humana. Acta Universitaria [Internet]. 2005, Sept-Dic [citado el 27 May 2016];15(3):34-40. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=41615305>

11. Ryan, KJ. Rey, CG, editores. Sherris Medical Microbiology. An Introduction to Infectious Diseases [Internet]. 4th ed. Chicago: McGraw Hill. 2003. 979 p. [citado el 04 Oct 2016]. Disponible en: http://lalashan.mcmaster.ca/theobio/projects/images/c/c0/An_Introduction_to_Infectious_Diseases.pdf

12. Carranza F, Newman M, Takei H, Klokkevold P, editores. Periodoncia Clínica de Carranza. 11va ed. Venezuela: Amolca; 2014. Microbiología de las enfermedades periodontales; [p134-169].

13. Torres MC, Díaz M, Acosta A. La clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en la estomatología. Gaceta Médica Espirituana [Internet]. 2009 [citado el 16 Set 2016];11(1). Disponible en: [http://www.bvs.sld.cu/revistas/gme/pub/vol.11.\(1\)_08/p8.html](http://www.bvs.sld.cu/revistas/gme/pub/vol.11.(1)_08/p8.html)

14. Equipo de redacción de IQB. Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica -ANMAT – Argentina. Clorhexidina. VADECUM [Internet]. 2013 [citado el 02 Set 2016]. Disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c090.htm>

15. Llovera JM. Clorhexidina: un antiséptico de nuestros tiempos. Consideraciones útiles para nuestra práctica clínica. Revisiones [Internet]. 2008, Mar [citado el 04 Set 2016];104(1):95-103. Disponible en: http://www.mgyf.org/medicinageneral/revista_104/pdf/95-103.pdf

16. Kapil V, Haydar S, Pearl V, Lundberg J, Weitzberg E, Ahluwalia A. Physiological role for nitrate-reducing oral bacteria in blood pressure control. Free Radical Biology and Medicine [Internet]. 2013, Feb [citado el 19 Oct 2016]; 55(1):93-100. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584912018229>

17. Castro IG, Naranjo EB, Domínguez MÁ, Gallegos J, Saavedra MV. Antilithiasic and hypolipidaemic effects of *Raphanus sativus* L. var. *niger* on Mice Fed with a Lithogenic Diet. J Biomed Biotechnol [Internet]. 2012 [citado el 19 Oct 2016]; 2012(1); Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2012/161205/cta/>
18. Paredes SD. Plantas popularmente empleadas en el Estado de Michoacán en el tratamiento de enfermedades hepáticas y vesiculares [tesis]. [México DF]: Facultad de Ciencias UNAM; 1984. 96 p.
19. Shyamala G, Singh PN. An analysis of chemical constituents of *Raphanus sativus*. Proc Natl Acad Sci India Sect B. 1987; 57(1): 157-159.
20. Facultad de Química y Farmacia. Manual de Laboratorio de Farmacognosia. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Sección de Investigación Aplicada y Tesis Profesional, Universidad de El Salvador. 2005.
21. Benítez TG. Propuesta para la obtención de extractos a ser utilizados como indicadores ácido-base en valoraciones de medio acuoso y no acuoso a partir de *Bixa orellana* Linn (achiote), e *Indigofera suffruticosa* Mill (añi). [tesis]. [San Salvador]: Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador; 2008. 142 p. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/2923/1/16100410.pdf>

22. Zavala FI, Castillo FA. Obtención del aceite virgen de la semilla de ajonjolí [tesis]. [Guayaquil]: Facultad de Ingeniería Química, Universidad de Guayaquil. 2007-2008. 125 p. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/1647/1/1011.pdf>
23. Abou-Gharbia HA, Shehata AA, Shahidi F. Effect of processing on oxidative stability and lipid classes of sesame oil. Food Research International [Internet]. 2000, Jun [citado el 01 Jun 2016];33(5):331-340. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996900000521>
24. Latif S, Anwar F. Aqueous enzymatic sesame oil and protein extraction. Food Chemistry [Internet]. 2011, Mar [citado el 01 Jun 2016];125(2):679-684. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610011611>
25. Carraturo H. Propiedades y Beneficios de las Semillas de Sésamo [Internet]. [Lugar desconocido]: Visitemos Misiones.com; 2012 [citado el 26 Mar 2016]; Disponible en: <http://visitemosmisiones.com/noticias/plantasmedicinales/propiedades-y-beneficios-de-las-semillas-de-sesamo/>

26. Pestka J. ¿Cuáles son los beneficios del aceite de semilla de sésamo? [Internet]. [Lugar desconocido]: eHow; s.f. [citado el 26 Mar 2016]; Disponible en: http://www.ehowenespanol.com/cuales-son-beneficios-del-aceite-semilla-sesamo-como_33992/
27. Anand TD, Pothiraj C, Gopinath RM, Kayalvizhi B. Effect of oil-pulling on dental caries causing bacteria. Afr J of Microbiol Res [Internet]. 2008, Mar [citado el 3 May 2016];2(1):63-66. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.519.4180&rep=rep1&type=pdf>
28. Martínez A. Aceites esenciales. 2003. 34 p. Localizado en: Facultad Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia [Internet]. [citado el 25 Jul 2016]. Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf>
29. Corso MP, Fagundes-Klen MR, Silva EA, Cardozo L, Santos JN, Freitas LS, Dariva C. Extraction of sesame seed (*Sesamun indicum L.*) oil using compressed propane and supercritical carbon dioxide. The Journal of Supercritical Fluids [Internet]. 2010 Feb [citado el 01 Jun 2016];52 (1):56-61. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844609003775>

30. Rodríguez M., Alcaraz L, Real SM. Proyecto Sagarpa-Conacyt 126183. Procedimiento para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. [Internet]. 1ra ed. México: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, SC, Instituto Politécnico Nacional 195; 2012. [47 p]. Disponible en: <http://intranet.cibnor.mx/personal/bmurillo/docs/manual-aceites-esenciales.pdf>
31. Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. Clin Infect Dis [Internet]. 2009, Dec [citado el 15 Oct 2016];49(i11):1749-1755. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19857164>
32. Lima JV, Aguiar R. *In Vitro* and *In Vivo* Antibacterial and Antifungal Screening of Natural Plant Products: Prospective Standardization of Basic Methods. En: Albuquerque U. et al. (eds.) *Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology*. New York: Springer Science+Business Media: 2013. 275-291 p. Disponible en: http://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-4614-8636-7_17#page-1
33. Paiva PMG, Gomes FS, Napoleão TH, Sá RA, Correia MTS, Coelho LCBB. Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. Brazil: Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology

and Microbial Biotechnology. 2010. p 396-406. [citado el 15 Oct 2016];

Disponibile en: <http://www.formatex.info/microbiology2/396-406.pdf>

5.5. Apéndices

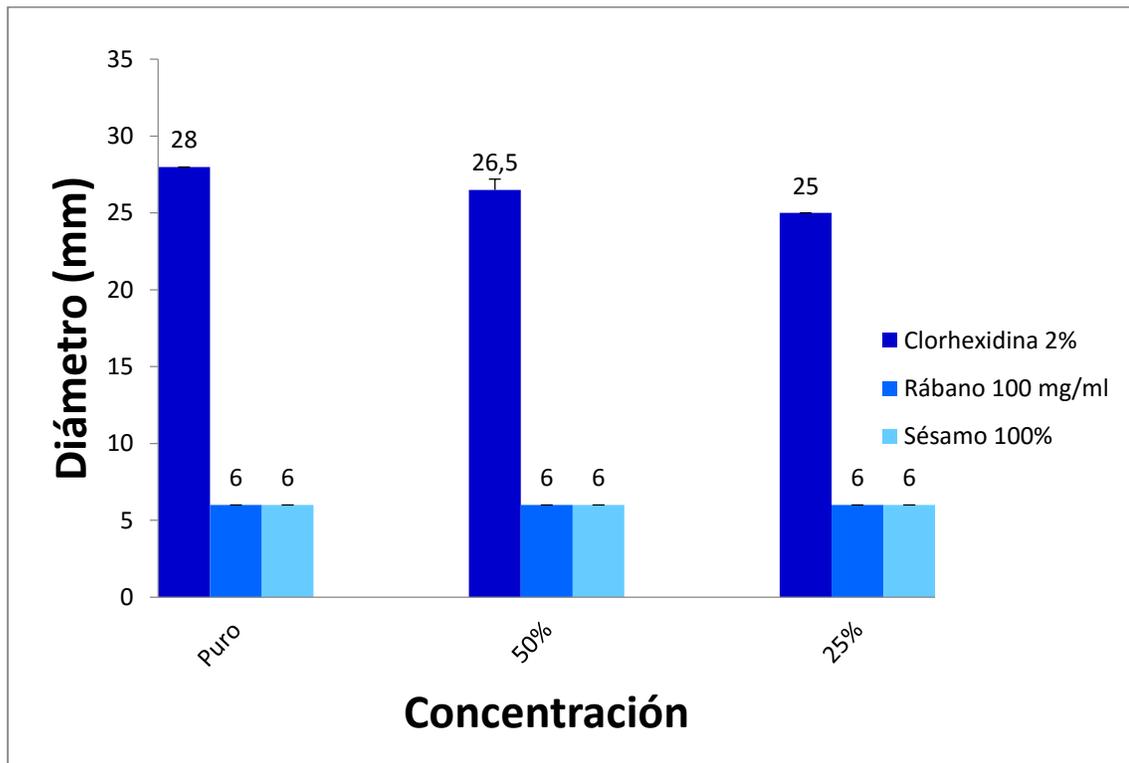


Gráfico 1. Halo de inhibición de los extractos de rábano y sésamo y del gluconato de clorhexidina vs. *Streptococcus mutans*.

Fuente: Dr. Norman Rojas. Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. 2016.



Figura 1. Colocación de las cáscaras de rábano en la estufa.

Fuente: Segura, P; Ciudad de la Investigación. CIPRONA, Universidad de Costa Rica. 2016.



Figura 2. Obtención de la muestra seca de las cáscaras de rábano.

Fuente: Segura, P; Ciudad de la Investigación. CIPRONA, Universidad de Costa Rica. 2016.

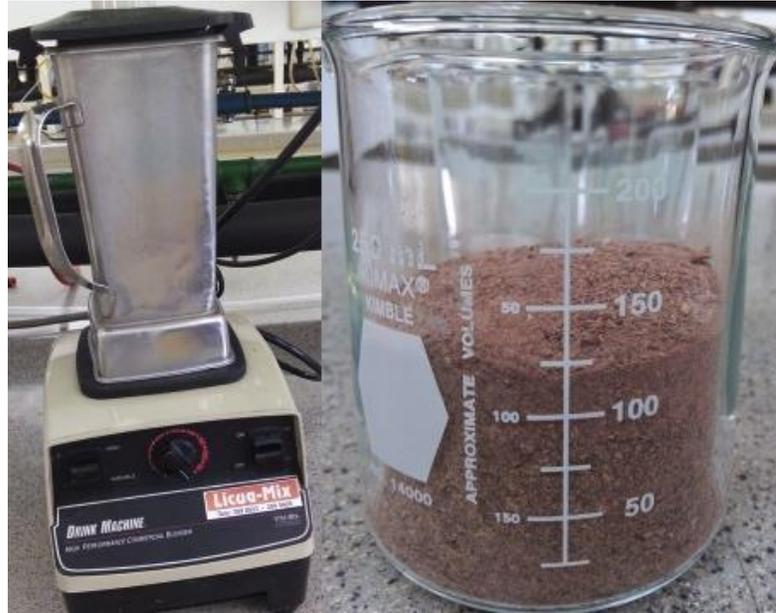


Figura 3. Trituración de las cáscaras de rábano secas.

Fuente: Segura, P; Ciudad de la Investigación. CIPRONA, Universidad de Costa Rica. 2016.



Figura 4. Adición del alcohol al rábano triturado

Fuente: Segura, P; Ciudad de la Investigación. CIPRONA, Universidad de Costa Rica. 2016.



Figura 5. Colocación en ultrasónico del rábano con el solvente.

Fuente: Segura, P; Ciudad de la Investigación. CIPRONA, Universidad de Costa Rica. 2016.



Figura 6. Filtrado del producto obtenido.

Fuente: Segura, P; Ciudad de la Investigación. CIPRONA, Universidad de Costa Rica. 2016.



Figura 7. Proceso de las extracciones de rábano 1, 2 y 3.

Fuente: Segura, P; Ciudad de la Investigación. CIPRONA, Universidad de Costa Rica. 2016.



Figura 8. Colocación de los extractos etanólicos con rábano en el rotavapor.

Fuente: Segura, P; Ciudad de la Investigación. CIPRONA, Universidad de Costa Rica. 2016.



Figura 9. Obtención del aceite esencial de rábano.

Fuente: Segura, P; Ciudad de la Investigación. CIPRONA, Universidad de Costa Rica. 2016.



Figura 10. Trituración de las semillas de sésamo.

Fuente: Liang, W; Ciudad de la Investigación. CIPRONA, Universidad de Costa Rica. 2016.



Figura 11. Mezcla de sésamo con etanol como solvente.

Fuente: Liang, W; Ciudad de la Investigación. CIPRONA, Universidad de Costa Rica. 2016.



Figura 12. Ultrasónico para agitar la mezcla del sésamo con el solvente

Fuente: Liang, W; Ciudad de la Investigación. CIPRONA, Universidad de Costa Rica. 2016.



Figura 13. Filtrado de la mezcla del sésamo y el alcohol.

Fuente: Liang, W; Ciudad de la Investigación. CIPRONA, Universidad de Costa Rica. 2016.



Figura 14. Balón con el filtrado en el rotavapor.

Fuente: Liang, W; Ciudad de la Investigación. CIPRONA, Universidad de Costa Rica. 2016.



Figura 15. Vial con la muestra obtenida del aceite esencial de sésamo.

Fuente: Liang, W; Ciudad de la Investigación. CIPRONA, Universidad de Costa Rica. 2016.