

Artículo original:

Actividad inhibitoria del crecimiento de *Streptococcus mutans* por acción de aceite esencial de la menta

Growth inhibitory activity of *Streptococcus mutans* due to the action of essential oil of Peppermint

Acceso Abierto

Citación

Morales-Carrasco. et al. **Actividad inhibitoria del crecimiento de *Streptococcus mutans* por acción de aceite esencial de la menta.** Revista científica INSPILIP V. (5), Número 2, Guayaquil, Ecuador.

El autor declara estar libre de cualquier asociación personal o comercial que pueda suponer un conflicto de intereses en conexión con el artículo, así como el haber respetado los principios éticos de investigación, como por ejemplo haber solicitado las autorizaciones de la institución donde se realizó el estudio, permiso para utilizar los datos, consentimientos informados y en caso de tratarse de estudio observacionales y ensayos clínicos, autorización de un CEISH, ARCSA, DIS, Medio Ambiente, entre otros. Además, la licencia para publicar imágenes de la o las personas que aparecen en el manuscrito. Por ello la revista no se responsabiliza por cualquier afectación a terceros.

✉ Morales-Carrasco Ángel Damián^{a,b}, admoralesc@uce.edu.ec; ✉ Palacios-Paredes Edesmin Wilfrido^{c,d}, wilfrido.palacios@gmail.com

a. Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador. Ecuador
b. Centro Latinoamericano de Estudios Epidemiológicos y Salud Social. Departamento de Investigaciones Dr. Carlos J. Finlay y de Barré. Ecuador
c. Docente titular Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador. Ecuador
d. Coordinador de la Comisión de Investigación de la Facultad de Odontología Universidad Central. Ecuador.

Identificación de la responsabilidad y contribución de los autores: los autores declaran haber contribuido de forma similar en la idea original (MA,PD), diseño del estudio (MA, PD), recolección de datos (MA), análisis de datos (MA,PD), redacción del borrador y redacción del artículo (MA).

Correspondencia: Ángel Damián Morales Carrasco; **Email:** admoralesc@uce.edu.ec

Fecha de ingreso: 20/04/2021; **Fecha de aprobación:** 27/05/2021

Fecha de publicación: 05/08/2021

Resumen

Objetivo: comprobar el efecto inhibitorio del aceite esencial de la menta al 25, 50, 75 y 100 % de concentración a las 24, 48 y 72 horas sobre la cepa de *Streptococcus mutans*, teniendo en cuenta como control positivo la clorhexidina al 0,12 % y como control negativo, el agua destilada. **Metodología:** estudio experimental in vitro, descriptivo y longitudinal. Se analizaron 60 discos de papel blanco, divididos en seis grupos de 10 discos cada grupo. Se sumergieron los discos de papel filtro blancos, en cada concentración y se colocaron en las cajas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans*. Mediante la elaboración del aceite esencial por proceso de arrastre de vapor se obtuvo el aceite de la menta, se midió el halo de inhibición para comprobar la eficacia inhibitoria sobre el *Streptococcus mutans* a las 24, 48 y 72 horas, respectivamente. Estos datos se recolectaron en una matriz de Excel y se exportó al programa SPSS, para los diferentes análisis estadísticos. **Resultados:** se observó que tanto para la prueba de Kolmogorov con corrección de Lilliefors ($n < 50$) o con la prueba de Shapiro Wilks, los datos referidos al halo de inhibición se ajustaron a la distribución normal ($p < 0,05$) en todos los grupos, incluso en algunos grupos los valores fueron constantes (menta las 4 concentraciones y control tanto negativo como positivo). En las dos pruebas se demostró que se cumple la hipótesis de investigación. Que existe un alto nivel de inhibición del aceite esencial de la menta en las cuatro concentraciones y a los tres tiempos se logra tener un efecto inhibitorio, entre muy sensible y supersensible. **Conclusiones:** el aceite de la menta es muy efectivo para inhibir al *Streptococcus mutans* frente a la clorhexidina al 0,12 %. Sin embargo, se debe continuar la investigación, para conocer sobre las características cromatográficas de masas y gases y detallar qué componente es el que inhibe a la bacteria. Además, se plantea investigar a detalle medicamentos alternativos al alcance de la población.

Palabras clave: Pruebas de Sensibilidad Microbiana, Mentha, *Streptococcus mutans*.

Abstract

Objective: to verify the inhibitory effect of the essential oil of peppermint at 25, 50, 75 and 100% concentration at 24, 48 and 72 hours on the *Streptococcus mutans* strain, taking into account 0.12 chlorhexidine as a positive control. % and as a negative control, distilled water. **Methodology:** experimental in vitro, descriptive and longitudinal study. 60 white paper discs were analyzed, divided into six groups of 10 discs each group. The white filter paper disks were dipped in each concentration and placed in the Petri dishes inoculated with *Streptococcus mutans*. By means of the preparation of the essential oil by steam entrainment process, the peppermint oil was obtained, the inhibition halo was measured to verify the inhibitory efficacy on *Streptococcus mutans* at 24, 48 and 72 hours, respectively. These data were collected in an Excel matrix and exported to the SPSS program, for the different statistical analyzes. **Results:** it was observed that both for the Kolmogorov test with Lilliefors correction ($n < 50$) or with the Shapiro Wilks test, the data referring to the inhibition halo were adjusted to the normal distribution ($p < 0.05$) in all the groups, even in some groups the values were constant (mint the 4 concentrations and both negative and positive control). In the two tests it was shown that the research hypothesis is fulfilled. That there is a high level of inhibition of the essential oil of peppermint in the four concentrations and at the three times it is possible to have an inhibitory effect, between very sensitive and supersensitive. **Conclusions:** peppermint oil is very effective in inhibiting *Streptococcus mutans* against 0.12% chlorhexidine. However, research must continue to learn about the chromatographic characteristics of masses and gases and to detail which component is the one that inhibits the bacteria. In addition, it is proposed to investigate in detail alternative drugs available to the population.

Keywords: Microbial Sensitivity Tests, *Mentha*, *Streptococcus mutans*.

Introducción

El *Streptococcus mutans* resalta como la especie más frecuentemente aislada en la placa dentobacteriana. La producción de biopelícula, conocida como placa dental, resulta una acción nociva de *Streptococcus mutans* en la superficie dental. En consecuencia, se reconoce como el microorganismo más significativo en el comienzo de la caries (1).

Se detalla que el aceite esencial de las plantas inhibe

la *Candida albicans* entre otras bacterias que afectan al ser humano, especialmente las que actúan en boca. Aumentando el porcentaje de concentración del aceite esencial habría una mayor inhibición.(2) En efecto, resulta desconocido en qué porcentaje el aceite esencial de menta inhibiría al *Streptococcus mutans*.

En el 2012 Villota (3) afirmó que los aceites esenciales han sido considerados fusiones con componentes volátiles, muy complejos, compuestos por hidrocarburos y por compuestos oxigenados como los alcoholes (4), aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos. Mientras Chamba (5) definió que los aceites esenciales fueron mezclas complejas de compuestos orgánicos, que provinieron del metabolismo secundario de las plantas.

Por otra parte, Usano (6) aseveró que los aceites esenciales provienen de una misma familia química, los terpenoides; estos presentan la propiedad de conceder múltiples aromas agradables a los aceites y suelen presentarse en la corteza de las hojas, llegando a contener un 2 % de aceites esenciales, y los frutos, hasta un 5 % de aceites esenciales.

Según Palacios (7), en la actualidad se conocieron aproximadamente 3.000 aceites esenciales, del cual solamente el 10 % tiene realmente un interés comercial. Los aceites esenciales se utilizaron como materia prima en la industria de la farmacéutica, alimentaria, cosmética y herboristería. Aunque en el campo farmacéutico, se demanden aceites libres de terpenos, porque se ha necesitado solo los principios activos farmacológicos de las plantas (7).

Aceites esenciales

Las plantas con aceites esenciales se ubican principalmente en las familias de las Labiadas (menta, lavanda, tomillo, espliego, romero) y las umbelíferas (anís, hinojo) (8). La menta es una planta del género de la familia Lamiaceae, se utiliza como condimento, para hacer infusiones, también para preparar o acompañar a las bebidas alcohólicas, también para otro tipo de bebidas, como es el caso de los países como Ecuador, Perú y Bolivia, donde se la utiliza para preparar agua medicinal (2,9). En estos países la menta resulta económicamente importante para la producción de resinas, taninos y comestibles, en muchos casos también se cultivaron como ornamentales y en la época precolombina también tuvo cierta importancia aborígen como hierba medicinal (10).

En la actualidad, se ha ratificado que las plantas poseen propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias antifúngicas, antipiréticas, descongestionante,

purgante analgésico, cicatrizante e inclusive se las ha utilizado para tratar el dolor dental; muchas de estas propiedades están descritas por curanderos empíricos, no por el método científico. Por ello se han delineado investigaciones dirigidas hacia la eliminación o disminución del *Streptococcus mutans*, de hecho repunta como uno de los componentes para su control el uso de antimicrobianos (10,11).

En efecto, se ha evidenciado que al medir el halo de inhibición antifúngico del aceite esencial de hierba luisa alcanzó un nivel superior al esperado (5). Por esta razón, el interés por adentrarnos en profundizar estos estudios desde la dimensión científica (12).

Materiales y métodos

Estudio experimental, descriptivo y longitudinal, la población estuvo conformada por 60 discos de papel blanco, divididos en seis grupos de 10 discos cada grupo. Se sumergieron los discos de papel filtro blancos, en cada concentración y se colocó en las cajas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans*. Mediante la elaboración del aceite esencial por proceso de arrastre de vapor se obtuvo el aceite de la menta, se midió el halo de inhibición para comprobar la eficacia inhibitoria sobre el *Streptococcus mutans* a las 24, 48 y 72 horas, respectivamente. Estos datos se recolectaron en una matriz de Excel y se exportó al programa SPSS, para los diferentes análisis estadísticos. Cabe mencionar que se utilizó la fórmula para estudios de contraste de hipótesis, direccionada a la comparación entre dos medias o proporciones.

Destilación por arrastre de vapor

Este método ha sido el más utilizado y el más efectivo para extraer los aceites esenciales, en el cual se aplicaron altas temperaturas para procesar la planta (13), hubo un mayor control de la velocidad de destilación; este método suele ser el más recomendado, pero cabe mencionar que no es el único (10) (14).

Este proceso se identifica al acoplar el material vegetal y este a su vez libera la esencia, para posteriormente condensarse. Una de las características de los aceites esenciales es que no son solubles en agua, lo que facilita que fueran arrastrados por una corriente de vapor de agua (15) (16).

Investigación experimental (in vitro)

Para medir el efecto inhibitorio se usó la cepa del *Streptococcus mutans* ATCC 25864; dicha cepa se inoculó en las cajas Petri preparadas con agar sangre

de cordero. Se colocaron los discos y posteriormente se midieron los halos de inhibición de cada uno de los discos a los tres tiempos establecidos.

Población y tamaño de muestra

En este estudio se consideró un muestreo aleatorio simple, ya que se escogió un modelo de Usano (6). En ese contexto se siguió el procedimiento, en el que se recolectaron tres kilogramos de hoja de menta, seleccionada desde la mitad de la planta hacia la parte superior, de tal manera que se garanticen las mejores hojas, verdes y frescas. Se trasladó hasta el laboratorio en un cooler de plástico con hielo a temperatura de 19 grados centígrados. Una vez en el laboratorio se seccionó en fragmentos pequeños de 2 cm de diámetro, luego se procedió a obtener el aceite esencial. Una vez obtenido el aceite se sometió a calentamiento por 30 minutos a 45°C de temperatura para concentrar el aceite esencial; se filtró y luego se dejó en reposo. Se procedió a realizar las diluciones correspondientes al 25 %, 50 %, 75 % y 100 % de concentración.

Una vez obtenido el aceite, se procedió al experimento, dividiendo en seis grupos, cada grupo de 10 discos cada uno, de tal manera que se sumergieron los discos de papel filtro blancos, en cada concentración y se colocó en las cajas Petri que estaban inoculadas con *Streptococcus mutans*, luego se midieron los halos de cada uno de los discos a las 24 horas, a las 48 horas y a las 72 horas.

El primer grupo de 25 %; el segundo grupo de 50 %; el tercer grupo de 75 %; el cuarto grupo de 100 %; el quinto grupo con el control positivo con clorhexidina al 0,12 % (15) y sexto grupo de control negativo con agua destilada.

Se realizó además una valoración de la sensibilidad, considerando para ello la siguiente escala: nula <8, sensible 9 a 12, muy sensible 12-18 y sumamente sensible > 18.

Selección de los discos de papel filtro

Se utilizaron 60 discos de papel filtro estériles de 6 mm de diámetro, los cuales fueron manipulados a través de pinzas estériles y fueron desechados aquellos que tuvieron signos de deterioro.

Posteriormente se colocaron los discos de papel filtro estériles de ¼ de pulgada en cada caja Petri; previo a ser impregnados en soluciones de aceite esencial de la menta al 25, 50, 75 y 100 % cada uno de ellos; con ayuda de una pipeta calibrada con 20 ul (microlitros) y puntas desechables estériles que fueron descartadas para cada concentración. De la misma manera se

procedió para el control positivo y para el control negativo.

Resultados

Se observó que tanto con la prueba de Kolmogorov con corrección de Lilliefors ($n < 50$) o con la prueba de Shapiro Wilks, los datos referidos al halo de inhibición se ajustaron a la distribución normal ($p < 0,05$) en todos los grupos, incluso en algunos grupos los valores fueron constantes (menta las 4 concentraciones y control tanto negativo como positivo), por lo que fue necesario emplear la estadística no paramétrica para el análisis inferencial (Tabla 1).

Tabla1. Resultados de la prueba de normalidad						
GRUPO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
Menta 25 % (24 h)	0,021	10	0,000	0,021	10	0,011
Menta 25 % (48 h)	0,021	10	0,000	0,021	10	0,011
Menta 25 % (72 h)	0,021	10	0,000	0,021	10	0,012
Menta 50 % (24 h)	0,021	10	0,000	0,010	10	0,000
Menta 50 % (48 h)	0,021	10	0,000	0,030	10	0,000
Menta 50 % (72 h)	0,021	10	0,000	0,040	10	0,000
Menta 75 % (24 h)	0,012	10	0,000	0,009	10	0,000
Menta 75 % (48 h)	0,024	10	0,004	0,024	10	0,012
Menta 75 % (72 h)	0,024	10	0,004	0,024	10	0,012
Menta 100 % (24 h)	0,015	10	0,091	0,020	10	0,025
Menta 100 % (48 h)	0,012	10	0,002	0,021	10	0,025
Menta 100 % (72 h)	0,012	10	0,002	0,021	10	0,025
Clorhexidina 0,12 % (24 h)	0,010	10	0,001	0,011	10	0,002
Clorhexidina 0,12 % (48 h)	0,010	10	0,001	0,011	10	0,002
Clorhexidina 0,12 % (72 h)	0,010	10	0,001	0,011	10	0,002
Agua destilada (24 h)	0,000	10	0,000	0,000	10	0,000
Agua destilada (48 h)	0,000	10	0,000	0,000	10	0,000
Agua destilada (72 h)	0,000	10	0,000	0,000	10	0,000

Partiendo del hecho de que se considera diferencia significativa cuando la significancia $p < 0,05$, puede inferirse que la menta al 50 % no difiere en sus resultados con la menta al 75 %, pero sí presenta diferencia respecto a la menta al 100 % y al control positivo. La menta al 75 % difiere en su capacidad inhibitoria respecto a la menta al 100 % y al control positivo. La menta al 100 % difiere significativamente respecto al control positivo. Asimismo, resulta evidente que, pese a las diferencias numéricas, dicha diferencia no es significativa al variar el tiempo (para una misma concentración). Es decir, la capacidad inhibitoria puede considerarse como estable desde el 50 % de concentración (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados test U Mann Whitney

	Menta 50 % (48 h)	Menta 50 % (72 h)	Menta 75 % (24 h)	Menta 75 % (48 h)	Menta 75 % (72 h)	Menta 100 % (24 h)	Menta 100 % (48 h)	Menta 100 % (72 h)	Clorhexidina 0,12 % (24 h)	Clorhexidina 0,12 % (48 h)	Clorhexidina 0,12 % (72 h)
Menta 50 % (24 h)	0,07	0,18	0,06	0,07	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Menta 50 % (48 h)		0,18	0,04	0,08	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Menta 50 % (72 h)			0,02	0,07	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Menta 75 % (24 h)				0,08	0,07	0,00	0,02	0,02	0,00	0,00	0,00
Menta 75 % (48 h)					0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Menta 75 % (72 h)						0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Menta 100 % (24 h)							0,37	0,27	0,00	0,00	0,00
Menta 100 % (48 h)								0,02	0,00	0,00	0,00
Menta 100 % (72 h)									0,00	0,00	0,00
Clorhexidina 0,12 % (24 h)										0,00	0,00
Clorhexidina 0,12 % (48h)											0,00
Clorhexidina 0,12 % (72h)											

Existe un alto nivel de inhibición del aceite esencial de la menta en las cuatro concentraciones y a los tres tiempos se logra tener un efecto inhibitorio, entre muy sensible y supersensible (Tabla 3).

Tabla 3. Sensibilidad frente a *Streptococcus mutans* por grupo (%)

Grupo	VALORACIÓN			
	Nula	Sensible	Muy sensible	Sumamente sensible
Menta 50 % (24 h)	80,0 %			
Menta 50 % (48 h)	80,0 %			
Menta 50 % (72 h)	80,0 %			
Menta 75 % (24 h)	50,0 %	40,0 %		
Menta 75 % (48 h)	50,0 %	40,0 %		
Menta 75 % (72 h)	50,0 %	40,0 %		
Menta 100 % (24 h)	10 %	20,0 %		08,0 %
Menta 100 % (48 h)	10,0 %	20,0 %		08,0 %
Menta 100 % (72 h)	10,0 %	20,0 %		08,0 %
Clorhexidina 0,12 % (24h)		20,0 %	10,0 %	
Clorhexidina 0,12 % (48h)		20,0 %	10,0 %	
Clorhexidina 0,12 % (72h)		20,0 %	10,0 %	

Discusión

En la presente investigación, se observó que tanto para la prueba de Kolmogorov con corrección de Lilliefors ($n < 50$) o con la prueba de Shapiro Wilks se demostró que se cumple la hipótesis de investigación. En efecto, se evidencia un alto nivel de inhibición del *Streptococcus mutans* por parte del aceite esencial de la menta en las cuatro concentraciones. De hecho, a los tres tiempos se observó un efecto inhibitorio, entre muy sensible y supersensible.

Con base a la evidencia estadística, se determinó que la capacidad inhibitoria del aceite esencial de la menta al 100 % es importante frente a *Streptococcus mutans*, mayor al control positivo. Solano en 2016 (17), evidenció en sus resultados un máximo de 14 mm del extracto oleoso del romero, sobre el *Streptococcus mutans*, en cambio, el aceite de la menta alcanza un 20 mm a las 48 horas. De la misma manera, Segura obtuvo un 7,32 cm de inhibición a las 48 horas y al 80 % de concentración (2)

Además, Villota y Usano (3) (6) obtuvieron resultados sensibles, que llegaron a 13 y 15 cm de halo

respectivamente, aunque no sobre el *Streptococcus mutans*, pero de igual manera utilizando aceite esencial. De tal modo que el efecto inhibitorio del aceite de la menta ante el *S. mutans* resulta ser muy efectivo, comparado tanto con los diferentes autores como con el control positivo.

En las pruebas estadísticas se demuestra el poder inhibitorio del aceite esencial de menta. Sobre todo que supera en tiempo de inhibición a la clorhexidina al 0,12 %, ya que esta solo inhibe hasta las 48 horas, y el aceite esencial de la menta consigue mantener el poder inhibitorio hasta las 72 horas. Por otra parte, sería muy interesante verificar también el efecto inhibitorio del aceite de la hierba luisa después de las 72 horas (5).

En nuestro estudio, el hecho que alcance a 19 y 20 cm de halo, a las concentraciones de 75 y 100 %, a las 48 y 72 horas, nos permite confirmar el efecto inhibitorio, tanto con las pruebas de normalidad como desde a evidencia práctica de los halos inhibitorios. Las cepas de *Streptococcus mutans* son sensibles desde concentraciones al 50 %. De la misma manera a

las concentraciones del 75 y 100 %, estas dos últimas son tan efectivas que supera incluso a la medida de inhibición del control positivo que es la clorhexidina al 0,12 %.

Conclusiones

Se concluye que el aceite de la menta es muy efectivo para inhibir al *Streptococcus mutans* frente a la clorhexidina al 0,12 %. Sin embargo, en futuras investigaciones se debe investigar a detalle las características cromatográficas de masas y gases, para puntualizar qué componente es el que inhibe a la bacteria. Por ello, se plantea investigar a pormenor medicamentos alternativos al alcance de la población.

Referencias

1. Kawabata S, Hamada S, Estudiar la formación de biopelículas de estreptococos mutans. *Métodos Enzymol.* 1999 , 310 , 513-523.
2. Segura S, Rodriguez M, Chico J. Actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Schinus molle* sobre el crecimiento de *Lasiodiplodia theobromae* en condiciones de laboratorio. *revista de investigación científica(REBIOL)*. Vol. 35 Núm. 2 (2015).
3. Villota C, Inhibición de *Cándida Albicans* a partir de aceite esencial de Botoncillo, (*Acmella Repens*) a diferentes concentraciones, comparación con nistatina de 100000 UI. Estudio in Vitro. Trabajo de titulación previo a la obtención del Título de Odontólogo. Carrera de Odontología. UCE. 2019 Quito
4. Beltrán M, Enelia, P, Estrada J, et al.. Estudio farmacognóstico para el cuidado de la salud a partir de aceites esenciales obtenidos por destilación de arrastre de vapor. 2010.
5. Chamba P, Lupe M. Efecto antifúngico del aceite esencial del *origanum vulgare* (orégano) y *cymbopogon citratus* (hierba luisa), sobre cepas de *cándida albicans* en comparación con la nistatina estudio invitro. Proyecto previo a la obtención del Título de Odontólogo. Carrera de Odontología. Quito: 2015; UCE. 77 p.
6. Usano J, Pala J, Aceites esenciales: conceptos básicos y actividad antibacteriana. *Reduca (Biología) Ser Botánica.* 2014;7(2):60–70.
7. Palacios A, Esterward W. Modelamiento de extracción del aceite esencial de *Aloysia citriodora* y *Menta*. *Rev Ing Ciencia, Tecnol e Innovación.* 2015;2/ N° 2.
8. Azaña I. Estudio de la efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *minthostachys mollis* griseb (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico. 2010.
9. Martins M, Arantes S. Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils. *J Ethnopharmacol Elsevier.* 2014; Volume 151(Issue 1):Pages 485-492..
10. Dos Santos A, Rosato M. Chemical Composition of the Essential Oils from Leaves and Fruits of *Menta L.* and *Schinus terebinthifolius* Raddi from Southern Brazil. *J Essent Oil Bear Plants.* 2009;(0972-060X):16–25.
11. Rivadeneira D, Álvarez P. Aceite esencial de molle como potencial antimicrobiano sobre *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro. *Kiru.* 2015;12–2:8–14. .
12. López-Rivera R, Herrera-Rodríguez S. Efecto antifúngico de emulsiones a base de aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia graveolens*), contra *Candida albicans*. *RevSalJal.* 2018;42–5.
13. Vásquez J, Diaz D. Efecto antimictico in vitro del aceite de molle (*Menta Linneo*) sobre *Trichophyton mentagrophytes*. *Enfoque Vet.* 2014;1.
14. Aguilar-González A, López-Malo A. Extractos y aceite esencial del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y su potencial aplicación como agentes antimicrobianos en alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 2013, vol. 7, no 2, p. 35-41.
15. Melo C. Efectividad de inhibición de la fusión entre el xilitol y el aceite esencial de la menta al 50 % sobre el *Streptococo mutans*. Estudio in vitro. UCE; 2017.
16. LLanos S. “Extracción y caracterización del aceite esencial de molle (*Menta L.*)”. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; 2012.
17. Solano, et al. Inhibición del *Streptococcus mutans*, mediante el uso de extracto acuoso y oleoso de *Rosmarinus officinalis* “romero” *Revista “Odontología”* Vol. 19, N° 2, Julio – Diciembre 2016 pp. 29-34.