



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

LA CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS  
*TAGETES ELLÍPTICA SMITH* Y DETERMINACIÓN ANTIBACTERIANA FRENTE A  
*STAPHYLOCCOCUS AUREUS* ATCC 25923

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

**AUTORES**

BACH. MARÍA DEL ROSARIO CAMPOS CHÁVEZ

BACH. CELINA ISABEL SERAFÍN GALÁN

**ASESOR**

MG. JORGE ANTONIO CHÁVEZ PÉREZ

LIMA - PERÚ

2019

## **Dedicatoria**

A Dios, primeramente, por su amor y Misericordia, porque nos regala un día y todos los días de nuestra vida, cada mañana y la bendición de tener con nosotros a nuestra familia.

A mis padres: Antonio Serafín y Rosa Galán; que me dieron la vida y me inculcaron el amor al prójimo, valores y principios que hoy me permiten culminar mis estudios a base de esfuerzo y dedicación. A mis hermanos: todo mi amor, cariño y admiración.

A José Campos y Rosario Chávez, mis amados padres, por su amor, dedicación y ejemplo de vida. A mi amado esposo Rodinson por su apoyo incondicional durante el desarrollo de mi carrera. A, mis amados hijos, Cynthia, Jocelyne y Rodinson que son la razón de mi existencia y el motivo que permite mi desarrollo personal en todo aspecto.

Celina Serafín y María Campos

## **Agradecimientos**

Gracias a las autoridades de la Universidad Interamericana para el Desarrollo, UNID, por haber permitido formarnos como profesionales, a todos nuestros profesores, que con esfuerzo, dedicación y sobre todo con mucho respeto nos brindaron sus enseñanzas y sus conocimientos. A nuestras madrinas de promoción Dra. Mg. QF. María Susana Roque Marroquín, a la decana de la Universidad Dra. Mg. QF. Silvana Sam Zavala, por su guía y apoyo de manera incondicional para el desarrollo de esta tesis. En forma muy especial a nuestro estimado y muy querido por siempre profesor Mg. Blgo. Daniel Ángel Lujan Roca. A los Mg. Blgo. Jorge Chávez Pérez. Blgo. Ronald Tarazona Delgado. Bach Blgo. UNALM, Siadén Peña Kelly. A todos ellos, por su guía en la realización práctica de nuestra tesis.

Celina Serafín y María Campos

## Resumen

El presente trabajo tiene como objetivo caracterizar químicamente el extracto etanólico de hojas de *Tagetes elliptica* Smith “Chincho” y determinar la actividad antibacteriana in vitro frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Se evaluó la actividad antimicrobiana mediante el método de Disco Difusión en Agar. El diseño del estudio fue de tipo experimental, in vitro de corte transversal. El análisis estadístico se hizo en el programa SPSS. Se realizó la caracterización fitoquímica. Se dividió fracciones A, B, C, D y E donde se sometieron a ensayos: Encontrándose mayor concentración de fenoles (+++), flavonoides (+++), esteroides (+++), cardenolidos (+++). Los resultados en Espectrofotometría Uv. Arrojaron 3 picos de mayor absorbancia A, B, C. El pico A se encuentra en el rango de 190 a 215 nm, donde la mayor absorbancia 0.7 corresponde a una longitud de onda ( $\lambda$ ) de 204 nm; el pico B se encuentra en el rango de 380 a 420 nm, donde la mayor absorbancia 0,306 corresponde a un  $\lambda$  de 414 nm, finalmente el pico C se encuentra en el rango de 600 a 670 nm, donde la mayor absorbancia 0,152 corresponde a un  $\lambda$  de 665 nm. Hubo mayor solubilidad con solventes orgánicos metanol (+++) y diclorometano (+++). Se realizaron análisis de citotoxicidad donde se observa que el 01 mg es la de mayor tamaño en promedio 9 mm y la de menor tamaño en promedio lo tiene la de 30 mg. La actividad antibacteriana del extracto etanólico de las Hojas de *Tagetes elliptica smith* (Chincho) en diferentes concentraciones frente a la cepa *S. aureus*. ATCC 25923 y un control positivo con (Ceftriaxona de 1 gr. presentó un promedio de  $6,14 \pm 1,63$ mm). El extracto etanólico de chincho a 100 mg/mL tuvo un promedio de halo de inhibición de  $3,76 \pm 0,32$  mm, a 90 mg/mL halo de inhibición de  $3,25 \pm 0,16$  mm, a 80 mg/mL promedio halo de inhibición  $3,18 \pm 0,44$  mm, a 70 mg/mL de  $2,56 \pm 0,99$  mm, a 60 mg/mL de  $1,99 \pm 1,33$  mm, a 50 mg/mL de  $1,40 \pm 0,73$  mm, a 40 mg/mL de  $1,32 \pm 0,54$  mm, a 30 mg/mL de  $1,23 \pm 0,31$  mm, a 20 mg/mL de  $1,14 \pm 0,35$  mm, a 10 mg/mL de  $1,12 \pm 0,16$  mm. A medida que la concentración del extracto etanólico de chincho disminuye la medición de los halos de inhibición también disminuyó. Existe actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Tagetes elliptica smith* (chincho) frente a cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**Palabras claves:** Caracterización fitoquímica, solubilidad, citotoxicidad, actividad antibacteriana.

## Abstract

This work aims to chemically characterize the ethanolic extract of the leaves of *Tagetes elliptica* Smith “Chincho” and determine the antibacterial activity in vitro against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Material and methods: The antimicrobial activity was evaluated by the Agar Diffusion method. The study design was experimental, in vitro cross-sectional. Statistical analysis was done in the SPSS program. Phytochemical characterization was performed. It was divided into four fractions A, B, C, D and E where they underwent tests: Found higher concentration of phenols (+++), flavonoids (+++), steroids (+++), cardenolides (+++). The results in Uv Spectrophotometry. They threw 3 peaks of greater absorbance A, B, C. Peak A is in the range of 190 to 215 nm, where the highest absorbance 0,7 corresponds to a wavelength ( $\lambda$ ) of 204 nm; peak B is in the range of 380 to 420 nm, where the greatest absorbance 0,306 corresponds to a  $\lambda$  of 414 nm, finally peak C is in the range of 600 to 670 nm, where the greatest absorbance 0,152 corresponds to a  $\lambda$  of 665 nm. There was greater solubility with organic solvents methanol (+++) and dichloromethane (+++). Cytotoxicity analyzes were performed where it is observed that 01 mg is the largest on average 9 mm and the smallest on average has 30 mg. The antibacterial activity of the ethanolic extract of the leaves of *Tagetes elliptica* smith (Chincho) in different concentrations against the *S. aureus* strain. ATCC 25923 and a positive control with (Ceftriaxone of 1 gr. Presented an average of  $6,14 \pm 1,63$ mm.) The ethanolic extract of chincho at 100 mg / mL had an average halo of inhibition of  $3,76 \pm 0,32$  mm, at 90 mg / mL halo of inhibition of  $3,25 \pm 0,16$  mm, at 80 mg / mL average halo of inhibition  $3,18 \pm 0,44$  mm, at 70 mg / mL of  $2,56 \pm 0,99$  mm, at 60 mg / mL of  $1,99 \pm 1,33$  mm, at 50 mg / mL of  $1,40 \pm 0,73$  mm, at 40 mg / mL of  $1,32 \pm 0,54$  mm, at 30 mg / mL of  $1,23 \pm 0,31$  mm, at 20 mg / mL of  $1,14 \pm 0,35$  mm, at 10 mg / mL of  $1,12 \pm 0,16$  mm As the concentration of the ethanolic extract of chincho decreases the measurement of the inhibition halos also decreased. There is in vitro antibacterial activity of the ethanol extract of *Tagetes elliptica* smith (chincho) against *Staphylococcus aureus* strain ATCC 25923.”

**Keywords:** Phytochemical characterization, solubility, cytotoxicity, antibacterial activity

## Índice General

<u>Dedicatoria</u>	ii
<u>Agradecimientos</u>	iii
<u>Resumen</u>	iv
<u>Abstract</u>	v
<u>Índice de Tablas</u>	ix
<u>Índice de Figuras</u>	x
<u>Introducción</u>	1
<u>Capítulo I</u>	2
<u>Planteamiento del Problema</u>	2
<u>1.1</u>	2
<u>1.2</u>	3
<u>1.2.1</u>	3
<u>1.2.2</u>	3
<u>1.3</u>	4
<u>1.3.1</u>	4
<u>1.3.2</u>	4
<u>1.4</u>	4
<u>1.4.1</u>	4
<u>1.4.2</u>	5
<u>1.4.3</u>	5
<u>1.4.4</u>	5
<u>Capítulo II Fundamentos Teóricos</u>	7
<u>2.1</u>	6
<u>2.1.1 Nacionales</u>	7
<u>2.1.2</u>	7
<u>2.2</u>	9
<u>2.2.1</u>	9
<u>2.2.2</u>	12

2.2.3 14

2.2.4 17

2.3 18

2.3.1 18

2.3.2 18

2.3.3 19

2.3.4 19

2.3.5 19

2.3.6 19

2.3.7 19

2.3.8 19

2.3.9 20

2.3.10 20

2.3.11 20

2.3.12 20

2.3.13 21

2.3.14 21

2.3.15 21

2.4 21

2.4.1 21

2.4.2 21

2.5 22

### Capítulo III Metodología

24

3.1 23

3.2 23

3.2.1 23

3.2.2 25

3.2.3 32

3.3 35

<u>3.3.1</u>	35
<u>3.3.2</u>	35
<u>3.4</u>	36
<u>3.4.1</u>	36
<u>3.4.2</u>	36
<u>3.5</u>	36
<u>Capítulo IV Presentación y Análisis de los Resultados</u>	38
<u>4.1</u>	37
<u>4.2</u>	43
<u>4.2.1</u>	44
<u>4.2.2</u>	45
<u>4.3</u>	51
<u>Capítulo V Conclusiones y Recomendaciones</u>	54
<u>5.1</u>	53
<u>5.2</u>	53
<u>Referencias Bibliográficas</u>	56
<u>Anexos</u>	64
<u>Anexo A: Matriz de Consistencia</u>	64
<u>Anexo B: Instrumentos</u>	65
<u>Anexo C: Data de Consolidado</u>	69
<u>Anexo D: Cronograma del Programa Experimental</u>	72
<u>Anexo E: Testimonios Fotográficos</u>	73
<u>Anexo F: Juicio de Expertos</u>	78



## Índice de Tablas

	Pág.
Tabla 1. División taxonómica del Chincho	11
Tabla 2. Operacionalización de Variables e Indicadores	23
Tabla 3. Determinación de Polifenoles	30
Tabla 4. Preparación de curva calibración para la determinación de polifenoles totales	31
Tabla 5. Rendimiento del extracto etanólico.	38
Tabla 6. Resultado de la Marcha fitoquímica.	39
Tabla 7. Solubilidad del extracto etanólico de hojas <i>Tagetes elliptica Smith</i> “chincho	40
Tabla 8. Resultado de polifenoles totales	41
Tabla 9. Resultado de la curva de calibración de los polifenoles	42
Tabla 10. Resultado alelopático de las radículas	43
Tabla 11. Resultado alelopático de los hipocótilos	43
Tabla 12. Resultado de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico	44
Tabla 13. Alelopatía (citotoxicidad) en radículas.	47
Tabla 14. Muestra de grupos homogéneos de radículas concentraciones de Chincho	48
Tabla 15. Alelopatía (Citotoxicidad en hipocótilos)	49
Tabla 16. Muestra de grupos homogéneos de hipocótilos concentraciones de Chincho.	49
Tabla 17. Microbiología: Actividad Antibacteriana	51
Tabla 18. Subconjuntos homogéneos de extracto etanólico.	51
Tabla 19. Metabolitos secundarios del extracto etanólico hojas <i>Tagetes elliptica Smith</i>	69
Tabla 20. Muestra las absorbancias y promedios de polifenoles en el extracto etanólico de hojas <i>Tagetes elliptica Smith</i> .	69
Tabla 21. Efecto citotóxico del extracto etanólico de hojas de <i>Tagetes elliptica Smith</i> “Chincho” en semillas de <i>Lactuca sativa</i> : “Radículas”	70
Tabla 22. Efecto citotóxico del extracto etanólico de las hojas de <i>Tagetes elliptica Smith</i> “Chincho” en semillas de <i>Lactuca sativa</i> : “Hipocótilos”.	70
Tabla 23. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de <i>Tagetes elliptica Smith</i> (Chincho) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	71

## Índice de Figuras

Pág.

<u>Figura 1: <i>Tagetes elíptica</i> Smith (Chincho).</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 2: Plantaciones de chincho</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 3: Carretera a Punchauca. Ilustra el camino a Punchauca.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 4: Hacienda Punchauca.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 5: Clasificación de los Microorganismos.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 6: Proceso para obtener el extracto etanólico.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 7. Obtención de las fracciones A, B, C, D, E.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 8: Extracto etanólico sin solvente.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 9: Ensayos de solubilidad.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 10. Preparación de los tubos A, B, C,+ blanco etanol</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 11: Chincho MP 1, 2 y 3.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 12: Incubadora VELP SCIENTIFICA FOC 225I.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 13: Bandeja metálica con <i>Lactuca sativa</i>.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 14: Semillas irradiadas.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 15: Bandeja metálica con placas Petri.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 16: Placas Grupo 1 y 2:</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 17: Agar Triptona de Soya.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 18: Cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 19: Cultivo de <i>Staphylococcus aureus</i>.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 20: Materiales para iniciar la colocación de los discos.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 21: Placa con extracto vegetal para discos.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 22: Instrumento Vernier.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 23: Balanza de precisión.</u>	¡Error! Marcador no definido.
<u>Figura 24: Espectrofotometría de las absorbancias del chincho</u>	40
<u>Figura 25: Concentración de polifenoles</u>	¡Error! Marcador no definido.

<u>Figura 26: Gráfica de la curva de calibración de polifenoles totales.</u>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<u>Figura 27: Determinación de los halos inhibitorios del <i>Tagetes elliptica</i> s. (chincho).</u>	44
<u>Figura 28: Determinación de los halos inhibitorios</u>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<u>Figura 29: Gráfica estadística en barras de la actividad antibacterial del chincho.</u>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<u>Figura 30: Histograma del Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico</u>	46
<u>Figura 31. Gráfica del crecimiento de radícula (mm).</u>	48
<u>Figura 32: Histograma del crecimiento de hipocótilos en diversas concentraciones.</u>	50
<u>Figura 33: Reconocimiento de polifenoles.</u>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<u>Figura 34: Reactivo Diclorometano.</u>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<u>Figura 35: Resultado de la prueba de solubilidad.</u>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<u>Figura 36: Cámara de esterilización.</u>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<u>Figura 37: Discos de papel Watman.</u>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<u>Figura 38: Cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923</u>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<u>Figura 39: Implementos dentro de la cabina de flujo laminar BIOFASE.</u>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<u>Figura 40: Sembrado de discos con la cepa <i>Staphylococcus aureus</i></u>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<u>Figura 41: Bioseguridad en el ensayo antibacterial.</u>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<u>Figura 42: Cabina de flujo laminar BIOFASE.</u>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>

## Introducción

A lo largo y ancho de nuestro territorio peruano, hemos sido bendecidos por una gran variedad y diversidad de plantas con propiedades curativas, que nos regala la naturaleza, hasta en los lugares más recónditos de nuestro país y porque no decirlo, en nuestra propia capital de Lima. Tal es el caso de *Tagetes elliptica smith* “chincho” quien es conocido por su taxonomía, familia, variedad y orden; a nivel Nacional e Internacional, no solo en el arte culinario como condimento, sino también como alternativa para calmar dolencias para aquellas personas que viven en lugares agrestes y que tienen poca accesibilidad a una posta o un hospital. Actualmente, a pesar que se ha realizado estudios en cuanto a la síntesis química de las plantas medicinales aún continúa la búsqueda y el encuentro de nuevas sustancias capaces de inhibir, bloquear, retardar, a ciertas bacterias, parásitos, virus, teniendo como un gran tesoro a las plantas que permiten ser estudiadas desde un enfoque científico.

Las especies del género *Tagetes* son plantas herbáceas que pertenecen a la familia Asteraceae, nativas de América, de las cuales nueve pertenecen al Perú que tienen ciertas propiedades, curativas Carhuapoma (2011).

Para nadie es ajeno el conocimiento de la aparición de cepas resistentes a los antibióticos y la lucha constante por los profesionales en salud en los últimos tiempos, y la necesidad de buscar nuevas alternativas para tratar de detener, inhibir y/o controlar su crecimiento, debido a los principios activos que posee, la planta en mención. Se pretende con esta investigación, determinar probables alternativas mediante análisis de tamizaje fitoquímico, alelopatía en semillas de *Lactuca sativa* (semillas de lechuga), solubilidad, espectrofotometría UV, y actividad antibacteriana con la finalidad de encontrar y aportar resultados favorables, para hacer frente a infecciones bacterianas de aquellos agentes, quienes lo producen, tal es el caso del *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, bacteria Gram positiva quien es un problema que reviste importancia particular en los países en desarrollo, donde quizás no se dispone de antibióticos de segunda y tercera línea más costosos o, si los hay, sus precios son inalcanzables.

## Capítulo I

### Planteamiento del Problema

#### 1.1 Descripción de la Realidad Problemática

Morosini (2018), sostiene que una gama de antibióticos son empleados para combatir infecciones mayores ocasionadas por bacterias. Collignon (2019), expone, en años recientes, a causa del uso excesivo de antibióticos, los microorganismos han implementado estrategias de resistencia frente a los antibacterianos, dificultando la recuperación de la salud de aquellas personas que padecen de dichas enfermedades.

Del Muro, et al (2018), afirmaron: esta resistencia es una amenaza para el manejo de las enfermedades infecciosas especialmente en aquellas donde el agente etiológico es multirresistentes. Como es el caso de *Staphylococcus aureus* principal causante de infecciones bacterianas que involucran el torrente circulatorio, el tracto respiratorio, los tejidos corporales no óseos y la piel manifestando una alta carga de morbilidad y mortalidad. Luján (2013).

Alternativa ecológica (2011), refiere, desde otro punto de vista, la medicina convencional con sus efectos secundarios, los productos tradicionales y nativos, como alternativa en la curación, han aumentado en las últimas décadas en el procedimiento de terapias en diversas patologías.

Para Soria, et al (2011), según la OMS, la fitoterapia constituye un tratamiento natural, inocuo, efectivo, con un valor asequible y racional para las poblaciones. La medicina tradicional, “complementaria”, “alternativa” o “no convencional”; como conocimientos, prácticas y creencias sanitarias variadas; incorporan remedios basados en plantas, animales y/o minerales, terapias espirituales, ejercicios y técnicas manuales que son aplicados de forma individual o en combinación para mantener el bienestar, así como tratar, diagnosticar y prevenir las enfermedades. Por lo tanto, para establecer el uso seguro y eficaz es necesaria la correcta identificación taxonómica de las especies y el origen de las mismas. Eyzaguirre (2016).

Por otro lado, Díaz, et al (2015), declararon, las plantas han sido una fuente invaluable de compuestos citotóxicos importantes en diversas terapias. La población ha requerido de estos vegetales como parte de la medicina alternativa en la curación de variadas dolencias, incluido el cáncer.

Silva (2016), manifiesta que la población que utiliza este tipo de medicina es de 70% en Canadá, 48% en Australia, 42% en EEUU, 40% en China y 38% en Bélgica; además de África y Asia. El 43% de Perú corresponde a la Amazonía con un 45%, los Andes 39% y la Costa 16%.

Díaz (2014), asegura que *Tagetes elliptica smith* (Chincho), es una planta silvestre que crece en los valles del Perú Andino (Canta, Chancay, Huancayo, etc.) y en la selva alta. *Tagetes elliptica Sm*, conocida como “chincho”, “chinchu” o “chikchimpa” se consume como condimento en la preparación de potajes (ajíes, guisos, asados y pachamancas); y en la medicina tradicional es utilizada como antiinflamatorio, antibacteriano y antifúngico; sus hojas son utilizadas en infusiones, para la dismenorrea. Su hábitat natural está entre los 1000 a 4500 m.s.n.m.

La medicina tradicional, alternativa y complementaria, está avanzando paso a paso en su reglamentación. Perú, nuestro país milenario y megadiverso, según algunos especialistas, tiene registrado aproximadamente 25,000 especies de plantas, que corresponden al 10% de todas las plantas del mundo. Por esa razón, nuestro Proyecto de Investigación, pretende que los usuarios dispongan de información e instrumentos que les permitan acceder a tratamientos adecuados, seguros y eficaces.

## 1.2 **Formulación del Problema**

### 1.2.1 **Problema General**

- ¿La caracterización química del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* “Chincho” tendrá relación con la determinación antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

### 1.2.2 Problemas Específicos.

- ¿El extracto etanólico de *Tagetes elliptica Smith* (Chincho) presentará alelopatía (citotoxicidad) en una concentración de 30mg/ml. de frente a semillas de *Lactuca sativa*?
- ¿El extracto etanólico de *Tagetes elliptica Smith* (Chincho) presentará actividad antibacteriana en una concentración de 100% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

## 1.3 Objetivos de la Investigación

### 1.3.1 Objetivo General

- Verificar si la caracterización química del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* “Chincho tiene relación con la determinación antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.”

### 1.3.2 Objetivos Específicos

- Determinar si el extracto etanólico de *Tagetes elliptica Smith* (Chincho) presenta alelopatía (citotoxicidad) en una concentración de 30mg/ml. de frente a semillas de *Lactuca sativa*.
- Determinar si el extracto etanólico de *Tagetes elliptica Smith* (Chincho) presenta actividad antibacteriana en una concentración de 100% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## 1.4 Justificación

Las enfermedades infecciosas son procesos que afectan a los organismos en general refieren Camarena, et al (2016). Están relacionados con microorganismos patógenos, entre ellos *Staphylococcus aureus*, principal especie patógena de su género, causante de infecciones diversas, tanto de origen comunitario como hospitalario, y con elevada frecuencia en la población.

### 1.4.1 Justificación teórica

Por otra parte, Lannacone, et al (2015), argumentan: *Tagetes elliptica Sm* “Chincho”, planta nativa del Perú y de América, viene siendo aprovechada por conocedores culinarios de las

bondades que ofrece este vegetal en los alimentos. Si bien es cierto, esta hierba posee propiedades terapéuticas diversas como bactericida, antiinflamatoria y antifúngica. Es por eso que, se pretende demostrar el efecto farmacológico que ejerce la planta medicinal en la bacteria mencionada.

Es necesario e indispensable encontrar terapias alternativas para el tratamiento de las enfermedades infecciosas, debido a la gravedad de los procesos como la alta resistencia de los microorganismos frente a los agentes quimioterápicos, como ocurre en el caso de *Staphylococcus aureus* que es multirresistente a diversas drogas y cuya toxicidad es elevada principalmente a nivel renal.

#### **1.4.2 Justificación práctica**

Expresar los primordiales componentes químicos con su estructura bioquímica que se encuentra en el extracto etanólico de las hojas de *Tagetes elliptica smith* (Chincho) a través del análisis fitoquímico, contenido de flavonoides y fenoles totales, así como valorar in vitro la citotoxicidad que presenta en la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 para contribuir al mejor uso de esta droga vegetal.

#### **1.4.3 Justificación metodológica.**

Confirmar que el método por emplear en el presente trabajo se ajusta a los indicadores de la investigación aplicada para el perfeccionamiento del uso con perspectivas científicas.

#### **1.4.4 Justificación económica**

Actualmente, existen particularidades que promueven el desarrollo de investigaciones que se enfocan en el hecho de que la población mundial no goza de acceso al sistema farmacológico, esto nos conduce al deber de ampliar el conocimiento referente a los productos naturales con el propósito de entender mejor las propiedades de este vegetal, incrementando su empleo, restableciendo la utilización de estos recursos naturales.

Hoy, se trabaja para integrar la medicina convencional que utiliza técnicas y tratamientos estandarizados con medicamentos científicamente probados, con el sistema de la medicina tradicional que utiliza tratamientos personalizados, no convencionales, de bajo costo, que ayudan al organismo enfermo a curarse para conservar la salud.



## Capítulo II

### Fundamentos Teóricos

#### 2.1 Antecedentes

##### 2.1.1 Nacionales

Hidalgo, et al (2019), en la ciudad de Lima Investigaron el efecto in vitro de *Tagetes minuta* (huacatay) frente a *Pseudomona aeruginosa*, para lo cual realizaron el screening fitoquímico, de la planta encontrando alcaloides y flavonoides. La Actividad antimicrobiana a 20mg/ml, frente a cepas de *Pseudomona aeruginosa* tuvo una sensibilidad baja; a 50mg/ml sensibilidad media; y a 80mg/ml sensibilidad alta. Al realizar la comparación con gentamicina a 40mg/ml se observó una mínima actividad frente *Pseudomona aeruginosa*, concluyendo que el extracto etanólico de las hojas de *Tagetes minuta* L (huacatay) presenta efecto antibacteriano in vitro frente a cepas de *Pseudomona aeruginosa* con mayor efectividad.

Sánchez (2018), en la ciudad de Lima evaluaron el efecto del aceite esencial de las hojas del *Tagetes minuta* (huacatay) sobre la actividad antimicrobiana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Cuyo resultado reveló que las concentraciones al 100%, 75%, 50% y 25%, si presentaron actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Villafuerte (2017), en la ciudad de Lima evaluó la acción antimicrobiana de los extractos etanólico y acuoso de *Tagetes multiflora kunth* "chincho" usando el método de difusión de pozo en agar frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 14053 y *Aspergillus niger* 16404. La acción antioxidante fue con DPPH y la citotoxicidad en *Artemia salina* (CYTED). Los resultados muestran Actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *P.a.*, *B.s.*, *C.a.* Actividad antioxidante y moderada Actividad citotóxica frente a *A.n.*

Sánchez, et al (2017), en la ciudad de Lima estudiaron la actividad antioxidante y marcha fitoquímico de los capítulos de *Tagetes filifolia* Lag. "pacha anís", empleando el método de

cribado fitoquímico de Olga Lock para la marcha fotoquímica y el método DPPH para la determinación de la actividad antioxidante. Los resultados mostraron fenoles en cantidades abundantes tanto en el extracto acuoso como en el extracto alcohólico, donde además se encontraron cantidades moderadas de quinonas. El extracto en alcohol etílico presentó mayor inhibición de radicales libres (91.26%).

Pimentel, et al (2015), en la ciudad de Lima realizaron el estudio para determinar la acción bactericida in vitro del extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano), *Tagetes elliptica* (chincho) y del *Tagetes minuta* (huacatay) comparado con Clorhexidina al 0,12% y Colgate Plax frente a cepas de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 y *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Demostrando que existe actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano), *Tagetes elliptica* (chincho) comparado con Clorhexidina al 0,12% y Colgate Plax frente a cepas de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 y *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277; asimismo el *Tagetes minuta* (huacatay) tiene efectividad con esta última cepa bacteriana.

### 2.1.2 Internacionales

Sousa, et al (2019), en la ciudad de Sao Paulo realizaron un estudio sobre la Diversidad de parasitoides en pimiento dulce orgánico (*Capsicum annum*) asociado con albahaca (*Ocimum basilicum*) y maravilla (*Tagetes erecta*). Este estudio evaluó los parasitoides atraídos por la asociación de albahaca y caléndula al cultivo orgánico de pimiento dulce. El experimento comprendió tres tratamientos: a) monocultivo de pimiento dulce; b) cultivos intercalados de pimiento dulce y albahaca; c) Cultivo de pimiento dulce y caléndula. El número de parasitoides aumentó en las asociaciones de pimiento dulce con albahaca y caléndula, brindando ventajas en el uso de la diversificación de vegetales para el manejo de cultivos orgánicos de pimiento.

Gutiérrez, et al (2018), en la Habana realizaron un estudio sobre la evaluación farmacognosia, fotoquímica y biológica de un extracto hidroalcohólico de *Tagetes lucida* Cavanilles. Se evaluó un extracto hidroalcohólico al 30 % de T. lucida, determinándose los parámetros físico-químicos de calidad del extracto, el tamizaje fitoquímico, cromatografía en capa delgada, cuantificándose fenoles totales según Folin-Ciocalteu y flavonoides totales mediante el método colorimétrico del tricloruro de aluminio. La toxicidad aguda fue

evaluada por vía oral y el efecto analgésico del extracto de acuerdo con el modelo que utiliza el ácido acético como inductor del dolor. El estudio farmacognóstico determinó parámetros del extracto hidroalcohólico, se hallaron presencia de flavonoides y fenoles el extracto tuvo la capacidad de disminuir el dolor que produce el ácido acético en los animales de experimentación, produciendo una analgesia similar al del ácido acetil salicílico que fue usado como control positivo.

Rodríguez, et al (2016), en la ciudad de Chapingo realizaron el estudio de *Árnica mexicana* (*Heterotheca inuloides* Cass. Asteraceae Astereae): México, los estudios farmacológicos han demostrado la actividad de ciertos compuestos asociados con el uso tradicional de la planta, como las actividades antiinflamatorias y citotóxicas de la especie. La literatura disponible mostró que los sesquiterpenos de cadineno son los principales componentes bioactivos de *Heterotheca inuloides* con posibles actividades farmacológicas.

Román, et al (2015), en la ciudad de Villavicencio realizaron un estudio sobre *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) para evaluar la actividad antibacteriana de extractos metanólicos y diclorometánicos de plantas, se aplicaron 16 tratamientos (extractos) a una cepa de SARM. El método de microdilución en caldo fue usado para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos, realizando un tamizaje a una concentración de 10 mg/mL. Se verificó por lectura visual después de aplicar 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT). 16 extractos probados, seis inhibieron al SARM en concentración de 10 mg/mL. Tales extractos tuvieron efecto a una CMI de 1,25 mg/mL. Los seis extractos de las plantas que tuvieron acción inhibitoria frente a SARM.

Molina, et (2018), en la ciudad de México realizaron el presente estudio basado en el interés por los productos naturales en la búsqueda de agentes fitotóxicos con nuevos mecanismos de acción, tales como las del género *Tagetes* sp. se reportó el aislamiento de dos metabolitos secundarios de un extracto etanólico de *Tagetes lucida*, conocida como pericón. Uno de estos compuestos presentó un buen efecto citotóxico sobre las semillas de amaranto. Se reporta la evaluación del efecto fitotóxico de dos extractos del mismo número de especies de *Tagetes* (*lucida* y *micrantha*), así como el aislamiento de dos metabolitos secundarios de la primera, uno de ellos con importante efecto sobre las semillas de

amaranto. Para el estudio se empleó una estrategia biodirigida y el criterio quimiotaxonómico para la selección de las especies vegetales.

## 2.2 Bases Teóricas

### 2.2.1 *Tagetes* *elíptica* Smith

Díaz (2014), clasifica el género *Tagetes*, dentro de la familia de las Asteraceae. El filósofo Apuleus (siglo II), asignó el nombre de *Tagetes* en honor al bello dios etrusco Tages, por la belleza de las flores. Este género comprende cerca de 60 especies entre ellas la especie que será nuestro objetivo de estudio.

*Tagetes elíptica* Smith es una planta nativa, silvestre y cultivada de la sierra peruana, la encontramos entre 1 000 – 4 500 m.s.n.m. Comúnmente se la conoce como: chincho, chinchucsa, chinche, huacatay. Es una hierba erecta, acespitosa, glabra, perenne crece hasta 1,80 m. de alto. Toda la planta presenta o tiene un olor fuerte y característico. Se utiliza en medicina como antiinflamatorio, antibacteriano, antifúngico; también como condimento en variados platos culinarios (adobos y pachamanca). Contiene Flavonoides, aceites éteres, diterpenos, polienos, tiofenos los cuales le confiere propiedades medicinales de carminativo (dismenorrea, cólicos estomacales). López (2010).



Figura SEQ Figura \\* ARABIC 1: *Tagetes elíptica* Smith (Chincho). Se observa

#### Taxonomía:

La porción de hojas de “chincho” serán, provenientes de las Haciendas de Chocas y Punchauca, ubicadas a 25 Km. carretera Lima – Canta.

Tabla 1.  
División taxonómica del Chincho

<i>Tagetes elliptica</i> Smith “Chincho”	
<b>DIVISIÓN</b>	Magnoliophyta
<b>CLASE</b>	Magnoliopsida
<b>SUBCLASE</b>	Asteridae
<b>ORDEN</b>	Asterales
<b>FAMILIA</b>	<i>Asteraceae</i>
<b>GÉNERO</b>	<i>Tagetes</i>
<b>ESPECIE</b>	<i>Tagetes elliptica</i> Sm.

Expone la división taxonómica del *Tagetes elliptica* Smith “Chincho” Fuente: Descrita por James Edward Smith y publicado en Rees, Cycl. xxxv. N.7

### Características

Barba (2014), sustenta que es una planta herbácea de crecimiento rápido y vertical; tiene un tallo principal que al ser podado desarrolla varios tallos laterales; posee hojas de forma redondeada, lanceolada, aserrada en los bordes y de olor intenso, superando al huacatay; desarrolla flores pequeñas de color amarillo intenso, las cuales al secarse van a formar semillas finas de forma alargada; la planta puede alcanzar una altura inicial de 50 – 70 cm. antes del primer corte y hasta 2 m. de altura en los siguientes cortes. Galeano (2016).



Figura SEQ Figura \\*ARABIC 3: Carretera a Punchauca. Ilustra el camino a Punchauca. Fuente

Al ser una planta originaria de los Andes el *Tagetes elliptica* se da con facilidad a 2700 metros sobre el nivel del mar. Francia (2017). Es necesario escoger un suelo bien drenado. Se reproduce excelentemente con semilla, aunque es recomendable que cuando la planta es joven y mide menos de 50 centímetros no se encuentre expuesta al sol de forma directa.

Alarcón (2001). Una vez que supere el medio metro, la radiación solar no es ningún problema.

Si se va a plantar inicialmente en macetas se recomienda replantar a las cinco u ocho semanas. La tierra o suelo donde se siembra puede contener sustrato universal o de cualquier tipo incluso para plantas de interiores. Compagnoni, et al (2018). El pH puede estar entre 6 y 6,5. La temperatura que estas plantas suelen resistir se encuentra entre 8 a 10°C en horario nocturno y entre 22 y 26°C para el día.

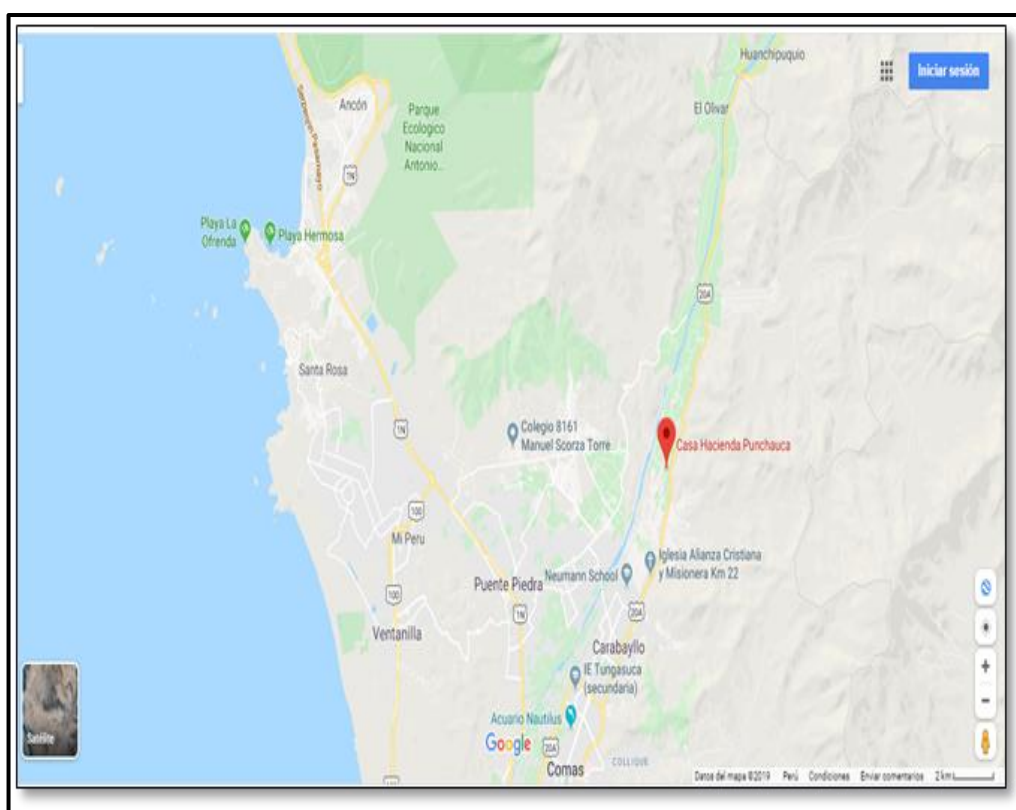


Figura SEQ Figura \* ARABIC 4: Hacienda Punchauca. Ilustra la ubicación en el mapa de la Hacienda Punchauca, Lima.

### Tamizaje Fitoquímico

Palacios (2013), refiere el mencionado sobre la investigación fitoquímico, como fase inicial, permite expresar cualitativamente grupos químicos principales que se encuentra en un vegetal y proceder a la separación de compuestos que tienen un gran beneficio; para ello se sustrae y/o fracciona los extractos.

El screening fitoquímico determina la valoración inmediata con reacciones sensibles, de bajo costo y replicables en los grupos primordiales de sustancias químicas presente en la planta. La marcha fitoquímica nos proporciona valores que son analizados, todo en grupos, con los resultados del screening farmacológico. Cuando en la marcha fitoquímica se observa que existen glucósidos cianogénicos, esto conlleva al descarte de la planta por contener una toxicidad elevada. La comprobación de la acción farmacológica o antimicrobiana demuestra estudios constantes del mismo. El tamizaje fitoquímico proporciona datos preliminares sobre los compuestos químicos de la planta que, unido a los resultados de las pruebas farmacológicas, dirigen la prolongación de los estudios. Existen variados métodos de screening fitoquímico que se encuentran descritos en la literatura.

### 2.2.2 Extracto Etanólico.

Se precisa que el extracto etanólico es una solución que tiene olor particular, procedente de materia vegetal deshidratada; para ello utilizamos la percolación o maceración con el etanol, siendo desechado el solvente por un procedimiento físico. González (2014).

#### **Maceración:**

Es un proceso de extracción sólido-líquido. La materia prima (producto sólido) tiene variedad de compuestos solubles en el líquido extractante (son las sustancias que se extraen). Delgado (2018). En la industria química se expresa este procedimiento como extracciones, sin embargo, al tratar los alimentos, hierbas, flores y otros productos para el consumo humano utilizamos el término maceración. Bastidas (2011).

El agente extractante (la fase líquida), en este caso es el agua, también empleamos otros líquidos tales como jugos, alcoholes (principalmente etanol) o aceites vegetales, vinagre que están aderezados (en diversos ingredientes) modificando así las propiedades de extracción del medio líquido. Guevara (2018).

La calidad que presenta los compuestos extraídos equivale a la materia prima empleada, tanto, así como del líquido de maceración. Cuando utilizemos el producto extraído se suele emplear una etapa de secado bien al sol, con calor o incluso una liofilización.

**Tipos de Maceración:**

- Maceración en frío:

Iza, et al (2014) Ecuador, en su estudio, aseguran: se basa en sumergir la materia prima en un líquido (para que macere) dejándolo por un determinado tiempo, para transmitir al líquido características del producto macerado.

En gastronomía se destaca la infusión de varias especias en aceite de oliva virgen extra. Asimismo, se puede añadir en una vasija con la menor cantidad de agua posible (destilada o sin cloro), lo suficiente como para cubrir totalmente lo que se vamos a macerar.

Esto se hace por un lapso más o menos largo, todo depende de lo que se vaya a macerar. Cuervo (2011). Otra opción es introducir la materia prima a macerar en alcohol (etanol), como se hace en la elaboración de perfumes.

La ventaja de este tipo de maceración en frío radica en que, al ser sólo con agua o etanol, conseguimos extraer todas las propiedades de la maceración, es decir, no se altera en lo más mínimo su esencia. Romero (2013).

- Maceración con calor

Este proceso tiene la misma forma de preparación que en la maceración en frío, siendo variable el medio con el cual logramos la maceración. Esto se observa en el caso de las plantas y hierbas medicinales. Barba (2014).

La desventaja de este tipo de maceración con calor radica en que no se extrae totalmente pura la esencia del producto macerado, porque siempre quema o destruye alguna mínima parte de esta. Muchas veces, se hacen extracciones con corriente de vapor, para realizarlo en menor tiempo y que no se pierda los compuestos. Ayala, et al (2016).

- Maceración en caliente

Conocida como el proceso de infusión, se realiza colocando el producto en contacto con un líquido a una temperatura elevada (mayor que la ambiental) y un mínimo punto de ebullición o hervor. Ferraro, et al (2016).



**Percolación:**

Conocido como lixiviación, este proceso es muy popular porque se puede realizar con disolventes orgánicos en frío preservando así los compuestos termolábiles contenidos en la materia prima. Badui (2016). Consiste en colocar la planta o hierba fragmentada en un embudo o recipiente cónico, luego se hace pasar un disolvente adecuado a través del mismo. Cruz, et al (2015). No es recomendable para resinas o materiales que se hinchen porque el disolvente no percolará. En este proceso se adiciona regularmente el solvente. Cruz, et al (2018).

**2.2.3 Actividad Antibacteriana.**

Moreno, et al (2009), plantean, es la capacidad de matar, destruir, inactivar microorganismos, impedir su proliferación e impedir su actividad patógena. Los antibacterianos se usan para tratar infecciones bacterianas. Jackson et al (1998). Los antibióticos se clasifican generalmente en betalactámicos, macrólidos, fluoroquinolonas, tetraciclina o aminoglucósidos.

Pacheco, et al (2018). Su clasificación dentro de estas categorías depende de sus espectros antimicrobianos, farmacodinámica y composición química. La toxicidad del fármaco para humanos y otros animales por antibacterianos generalmente se considera baja.

Duque, et al (2011). El uso prolongado de ciertos antibacterianos puede disminuir el número de flora intestinal, lo que puede tener un impacto negativo en la salud. Belloso (2009). El consumo de probióticos y una alimentación razonable pueden ayudar a reemplazar la flora intestinal destruida.

De Cáceres (2016), menciona, durante el siglo XX, gracias al descubrimiento, desarrollo y uso de antibacterianos se redujo la mortalidad por infecciones bacterianas. La aplicación neumática en diversos medicamentos con nitroglicerina, provocó el inicio de la era de los antibióticos (periodo dorado de descubrimientos creando fármacos altamente efectivos) entre 1945 y 1970.

Pabón, et al (2012). Tiempo después, en 1980 a consecuencia de grandes inversiones que se utilizaron para desarrollar y probar nuevos medicamentos, disminuyó el aporte de esta

industria clínica. Asimismo, hubo un preocupante aumento en la resistencia antimicrobiana de bacterias, hongos, parásitos y algunos virus a múltiples agentes existentes. Paredes (2012).

De acuerdo con Martínez (2018), los antibacterianos son medicamentos mayormente utilizados por médicos en el tratamiento de diversas infecciones respiratorias virales. A consecuencia del uso indiscriminado y perjudicial de los antibacterianos, ha estallado en forma acelerada la resistencia de microorganismos a los antibióticos, resultando gran amenaza para la salud pública mundial ([https://biologicaliga.files.wordpress.com › 2008/08 › bacteria2010](https://biologicaliga.files.wordpress.com/2008/08/bacteria2010)).

Como expresa Tenazoa, et al (2017), esta resistencia exige la búsqueda de nuevos y eficaces agentes antibacterianos que actúen sobre dichas bacterias patógenas. Una posible estrategia puede ser la aplicación de metagenómica para identificar compuestos bioactivos producidos por microorganismos actualmente desconocidos y no cultivados; también sería positivo el desarrollo de bibliotecas (de moléculas pequeñas personalizadas) para objetivos bacterianos.

A juicio de Jerez (2014), las bacterias presentan tamaños microscópicos entre 0,5 y 5 micrómetros ( $\mu\text{m}$ ) de largo y en diversas formas como esferas, barras, hélices y esferas. Estos seres microscópicos son procariotas (no poseen núcleo ni orgánulos internos). En su mayoría cuentan con una pared celular compuesta de peptidoglucanos, tienen flagelos u otros sistemas de desplazamiento, siendo móviles. Las bacterias son muy necesarias para el reciclaje de los elementos, ya que varios pasos importantes (ciclos biogeoquímicos) dependen de ellas. Por ejemplo: la fijación del nitrógeno atmosférico.

#### Clasificación de las Bacterias.

a. Según su morfología:

Coco (del griego *kókkos*, grano): de forma esférica.

- Diplococo: conjunto de dos cocos.
- Tetracoco: conjunto de cuatro cocos.
- Estreptococo: cadenas formadas por cocos.
- Estafilococo: conjunto irregular de cocos o en forma de racimo.

Bacilo (del latín baculus, varilla): tiene la forma de bastoncillo.

Formas helicoidales:

Vibrio: son un poco curvados, tiene la forma de coma, judía o cacahuete.

Espirilo: tiene forma helicoidal rígida o de tirabuzón.

Espiroqueta: presenta la forma de tirabuzón (helicoidal flexible).

Díaz (2019), revela que también existen especies con formas tetraédricas o cúbicas. La composición de la pared celular y el citoesqueleto determinan la gran variedad de formas que poseen las bacterias, influyendo de esta manera en la capacidad que presenta estos microorganismos para obtener sus nutrientes, tener movimiento frente a ciertos estímulos. Estas son las diferentes especies que poseen diversos patrones de asociación:

*Neisseria gonorrhoeae*, tiene la forma diploide (por pares).

*Streptococcus*, tiene la forma de cadenas.

*Staphylococcus*, tiene la forma de racimos.

Actinobacteria, tiene la forma de filamentos. Estos filamentos se rodean de una vaina que abarca una multitud de células individuales, llegando a ramificarse, tales como el género *Nocardia*, cuyo aspecto del micelio es en forma de hongo. Camaró, et al (2015).

Desde la posición de Tovar (2018), la actividad o potencia de una sustancia antibacteriana se define como la “habilidad específica o capacidad de un producto de lograr su efecto planeado”, por ejemplo, eliminar o inhibir (halo inhibitorio) las bacterias. Esta propiedad se determina mediante el método analítico (método de análisis microbiológico). Rodríguez (2015).

La potencia debe ser una propiedad o atributo definible y medible para un producto biológico o semisintético. Pedraza, et al (2009) y debe estar presente en los estudios de estabilidad, con el ánimo de verificar la conformidad del producto en lo que respecta su calidad. Martínez (2005). Hurtado, et al (2002).

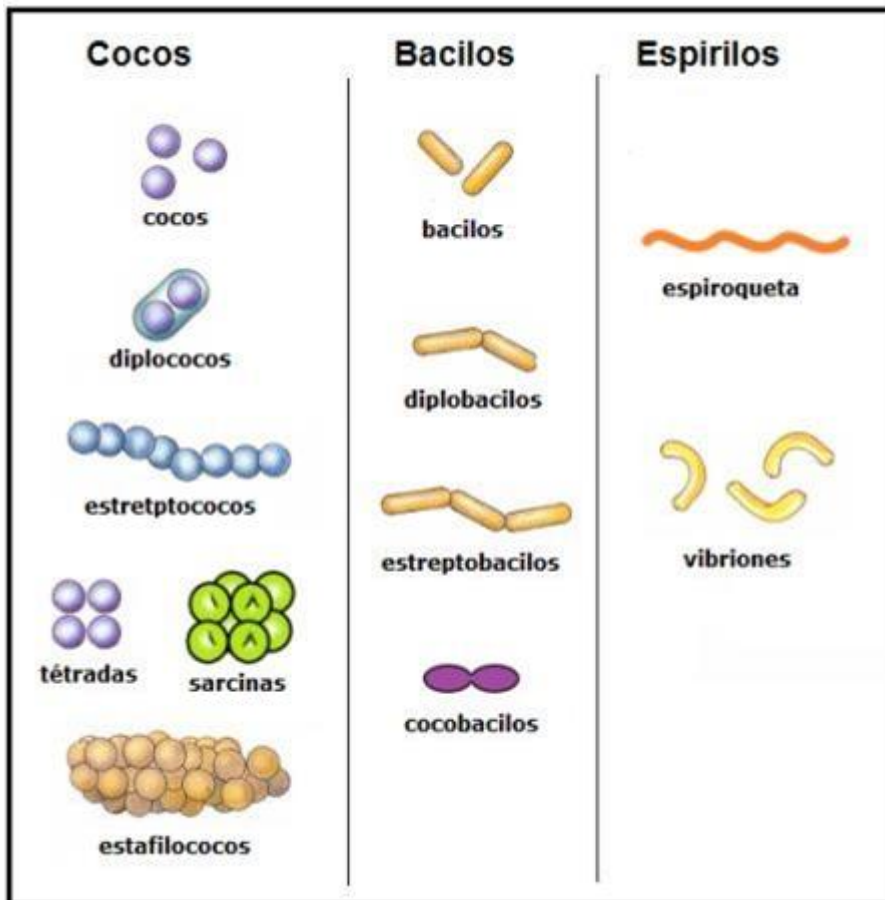


Figura SEQ Figura \\* ARABIC 5: Clasificación de los Microorganismos. En sus diferentes formas cocos, bacilos, espirilos.

Fuente: Revista de Actualización Clínica Investiga, 44, 2309. Vargas Flores, T., & Villazante

De acuerdo con Prescott, et al (1999), la forma de acción los antibacterianos pueden ser esterilizantes, desinfectantes, antisépticos o quimioterápicos.

#### 2.2.4 *Staphylococcus aureus*

Desde el punto de vista de Castañón-Sánchez (2012), *Staphylococcus aureus* es una bacteria nociva y contagiosa para el humano, muy importante porque coloniza e infecta a pacientes hospitalizados que tienen sus defensas disminuidas y a personas inmuno competentes de una población. Ocasiona patologías diversas, como un absceso en la piel hasta septicemias mortales y choque tóxico estafilocócico (SSTS). También es responsable de la intoxicación por alimentos (esto ocurre en epidemias, debido a la ingestión de la enterotoxina B producida por una cepa tóxica de *Staphylococcus aureus* que se halla en el alimento.

*Staphylococcus* presenta cocos gram positivos de 0,5 a 1,5  $\mu\text{m}$  de diámetro, se agrupan en racimos irregulares, siendo anaerobio facultativo y regularmente catalasa y coagulasa positivos.

El peptidoglucano y ácido teicoico son los componentes más importantes de la pared celular y muestran gran resistencia pudiendo sobrevivir a diversas condiciones ambientales adversas; generando una gran variedad de toxinas y enzimas, fermenta el manitol y la prueba positiva para la desoxirribonucleasa. Almeida, et al (1996).

Seral, et al (2005), argumentan: *Staphylococcus aureus* también sobrevive dentro de diversos tipos de células del hospedero, incluyendo fagocitos y células no fagocíticas. Esta facultad de permanecer en el interior de las células juega un papel importante en la patogénesis de las infecciones producidas por este microorganismo y dicta la necesidad del empleo de antibióticos con actividad intracelular eficiente. Velásquez (2017).

## 2.3 Marco Conceptual

### 2.3.1 Actividad Citotóxica:

La citotoxicidad es un indicador biológico que establece una alteración de las funciones celulares básicas que implica un daño fenotípico. El análisis de citotoxicidad es de fácil medición porque emplea parámetros de clasificación de uso común, como la relación dosis dependiente de Paracelso, que permite diferenciar si el compuesto químico (al que se exponen las células) se puede calificar como tóxico o como medicamento. García, et al (2011).

### 2.3.2 Alelopatía:

Según Ruiz (2017), es un fenómeno biológico por el cual un organismo produce uno o más compuestos bioquímicos que influyen en el crecimiento, supervivencia o reproducción de otros organismos. Estos compuestos son conocidos como alelos químicos y pueden conllevar a efectos benéficos (alelopatía positiva) o efectos perjudiciales (alelopatía negativa) a los organismos receptores. Fernández (2017). Fue utilizado por primera vez por Molisch (1937) para referirse a los efectos perjudiciales o benéficos que son de forma

directa o indirectamente en el resultado de la acción de compuestos químicos que, liberados por una planta, ejercen su acción en otra. Huamán, et al (2016).

### 2.3.3 **Antibacteriano:**

Es una sustancia que tiene propiedades de inhibir el crecimiento o proliferación sin causar daño del objeto, medio o individuo que las porta. Las plantas que presentan estas propiedades son empleados en medicina natural. Silva (2016).

### 2.3.4 **Antiinflamatorio:**

Este término se aplica al medicamento o procedimiento médico usados para prevenir o disminuir la inflamación de los tejidos. Díaz (2019).

### 2.3.5 **Antocianinas:**

Son un tipo de metabolito secundario de las plantas que actúan como pigmento, produciendo un cambio de color en las hojas que puede ser violeta, rojo y naranja. Cuanto más oscura es la planta más cantidad de compuestos polifenólicos (flavonoides) posee. Guerra (2017).

### 2.3.6 **Bacterias Patógenas:**

Ortega de los Ríos (2018), sostiene que son agentes causantes de diversas patologías; ocasionando enfermedades como la fiebre tifoidea, el tétano, la sífilis, la difteria, el cólera, la lepra, intoxicaciones alimentarias y la tuberculosis. Estos microorganismos son fundamentales en la agricultura y en la ganadería, donde encontramos la multitud de enfermedades como la plaga del fuego, la salmonella, la mancha de la hoja, la mastitis y el carbunco.

### 2.3.7 **Esteroides:**

(Ciclopentanoperhidrofenantreno o esterano), son compuestos orgánicos que constituyen las vitaminas y hormonas y presentan como estructura básica anillo o ciclos condensados a los cuales se adicionan diferentes agrupaciones funcionales, como hidróxilos (hidrófilos) y carbonilos o cadenas hidrocarbonadas (hidrófobas). Amaya (2016).

### 2.3.8 **Extracto Vegetal:**

Cruz, et al (2010), afirman, es una variedad compleja de compuestos químicos, que se obtienen por procesos químicos, físicos y/o microbiológicos, desde un medio natural a través de diferentes solventes. En este caso particular nos referimos a extractos obtenibles a partir de una planta con actividad farmacológica.

### 2.3.9 **Fenoles Totales:**

Peña, et al (2017), manifiestan que son sustancias orgánicas con estructuras moleculares que contienen un grupo fenol y un anillo aromático que, según su composición química, abarca desde moléculas simples (ácidos fenólicos) hasta complejos polímeros (taninos y lignina), incluyendo a los flavonoides presentes en los pigmentos vegetales. Se sintetizan a través de diferentes vías como la del ácido shiquímico (responsable de la biosíntesis de la mayoría de fenoles en las plantas) y la del ácido malónico, fuente importante de fenoles en hongos y bacterias.

### 2.3.10 **Flavonoides:**

Son pigmentos derivados de la fenil-benzo y fenil cromona o pirona. Se clasifican en flavonas, chalconas, flavanoles, flavonoles, taninos condensados y antocianidinas. También se incluyen a las auronas (responsables de las coloraciones de muchas hojas, frutos y flores) y xantonas; estas protegen de los nocivos efectos de la radiación UV y ejercen una eficaz actividad antioxidante. Los antocianósidos presentes en los pigmentos azules y rojos de las flores, son muy solubles en agua. Rogel (2018).

### 2.3.11 ***Lactuca Sativa:***

Es una planta anual, propia de las regiones semitempladas, perteneciente a la familia de las *Asteraceae* se cultiva con fines alimentarios. Márquez, et al (2016). Actualmente se cultiva en invernaderos para consumir durante el año. Su origen es incierto (India, Europa), data desde hace 2500 años. Sus beneficios y propiedades son múltiples, ya que contiene hierro (para combatir la fatiga, anemia); fortalece las vías respiratorias, tiene efectos sedantes, tranquilizantes, antioxidante y analgésico. Se consume fresca como parte de la ensalada, también se utiliza como decoración en variados potajes. Melgarejo (2018).

### 2.3.12 Medicamentos Alternativos:

Se considera medicina alternativa al conjunto de disciplinas terapéuticas y diagnósticas que existen fuera de las instituciones del sistema de salud convencional. El uso actual de esta 'clase' de medicina está muy extendido, tanto en el mundo industrial como el preindustrial. Parte del creciente uso de las terapias alternativas se debe a su reciente validación profesional; muchos textos de divulgación general claman y justifican su uso, basándose en información académica no necesariamente de rigor científico. Taco, et al (2016).

### 2.3.13 Multirresistente:

Se refieren a aquellas bacterias que presentan resistencia a una o más clases de quimioterápicos. Esta condición está asociada a tener resistencia a más de una familia o grupo de antimicrobianos de uso habitual, y que esa resistencia sea de relevancia clínica, es decir, que presente una dificultad para el tratamiento. Rivero (2013).

### 2.3.14 Observación:

Es la técnica de investigación básica, sobre las que se sustentan todas las demás, ya que establece la relación básica entre el sujeto que observa y el objeto que es observado, que es el inicio de toda comprensión de la realidad. Según Bunge citado en Rivero (2013), la observación en cuanto es un procedimiento científico se caracteriza por ser: intencionada, ilustrada, selectiva e interpretativa.

### 2.3.15 Polifenoles:

Coronado (2019), reafirma que son compuestos bio-sintetizados por vegetales (frutos, hojas, tallos, raíces, semillas u otras partes). Estos poseen uno o más grupos hidroxilos (-OH) unido a uno o más anillos bencénicos. Ramírez, et al (2018). Los polifenoles tienen numerosas propiedades beneficiosas para el organismo destacando su acción protectora contra los radicales libres (cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas) y la prevención de la inflamación, así como del estrés oxidativo. Jurado, et al (2016).

## 2.4 Hipótesis

### 2.4.1 Hipótesis General

- La caracterización química del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* “Chincho” tiene relación con la actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



### 2.4.2 Hipótesis Específicas

- El extracto etanólico de *Tagetes elliptica Smith* (Chincho) presenta alelopatía (citotoxicidad) en una concentración de 30mg/ml. de frente a semillas de *Lactuca sativa*.
- El extracto etanólico de *Tagetes elliptica Smith* (Chincho) presenta actividad antibacteriana en una concentración de 100% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

### 2.5 Operacionalización de Variables e Indicadores

Tabla 2.

*Operacionalización de Variables e Indicadores*

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADORES
Extracto etanólico <i>Tagetes elliptica Smith</i> (chincho),	Concentración de un recurso vegetal en medio alcohólico, cuyo propósito es obtener mayor concentración de metabolitos activos	<b>Tamizaje fitoquímico</b>	
		Flavonoides Esteroides Taninos Alcaloides Cardenólidos Triterpenos Quinolinas Leucoantocianidinas Aminoácidos	Nivel 4: (+++) Nivel 3: (++) Nivel 2: (+) Leve 1: (-)
		<b>Concentración de Polifenoles</b>	Curva de calibración con Concentración de 3.2 mg./100ml
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADORES
Actividad antibacteriana	Acción que presenta algunas plantas para inhibir el efecto bacteriano.		
	<b>Alelopatía</b> Prueba de sensibilidad en semillas de plantas de <i>Lactuca sativa</i>	Longitud del crecimiento de las radículas e hipocótilos de las semillas	Concentración de inhibición del crecimiento radícula
	<b>Efecto antibacteriano.</b> Acción que tienen algunas plantas para inhibir la bacteria.	Extracto etanólico <i>Tagetes elliptica Smith</i> (chincho), frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	Diámetro de halos de inhibición, concentración de inhibición que presenta mayor actividad antibacteriana

La tabla: 2 muestra la Operacionalización de Variables independientes con su definición operacional así mismo con las variables dependientes con sus respectivas dimensiones e Indicadores, donde detalla los análisis, según las variables. Fuente: Autoría propia

## Capítulo III

### Metodología

#### 3.1 Tipo y Nivel de Investigación

Es de naturaleza básica, experimental y cuantitativa.

- Básica: Porque busca conocimientos y verdades que permitan describir, explicar, generalizar y predecir los fenómenos que se producen en la naturaleza.
- Experimental: Porque consiste en la manipulación de una variable no comprobada, bajo condiciones de control, con el fin de describir de qué modo o por qué causa se produce una situación o acontecimiento en particular.
- Cuantitativa: Porque es una forma estructurada de recopilar y analizar datos obtenidos de distintas fuentes, implicando el uso de herramientas informáticas, estadísticas y matemáticas para generar resultados.

#### 3.2 Descripción del Método y Diseño

##### 3.2.1 Material Biológico

###### a) Recolección y Selección de Muestra

La muestra de hojas de *Tagetes elliptica* Smith (*chincho*), “chincho” proviene de las Haciendas de Chocas y Punchauca, ubicado a 25 Km. carretera Lima–Canta, y fue proporcionada muestras completas de la planta por Celina Isabel Serafín Galán y María Del Rosario Campos Chávez. Para la identificación botánica, al Herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

###### b) Elaboración del extracto

El material (hojas de *Tagetes elliptica* Smith (*chincho*) seleccionado, se sometió a un proceso de secado natural y pulverizado, se obtuvo un polvo fino de aproximadamente 500 gramos. Se pesó 10 gramos del material seco colocándose en frascos de vidrio ámbar de boca ancha, se agregó 100 ml de etanol al 96%, rotulando el frasco (nombre del material biológico y fecha), y se cubrió con papel aluminio, se dejó en maceración durante 07 días a temperatura ambiente libre de luz natural y artificial. Se procedió a filtrar el extracto empleando papel de filtro Whatman No 4, fue almacenado a temperatura ambiente hasta su uso en los ensayos, de (caracterización, solubilidad, citotoxicidad, actividad in vitro) luz

natural y artificial. Se procedió a filtrar el extracto empleando papel de filtro Whatman No 4, fue almacenado a temperatura ambiente hasta su uso en los ensayos, de (caracterización, solubilidad, citotoxicidad, actividad in vitro).

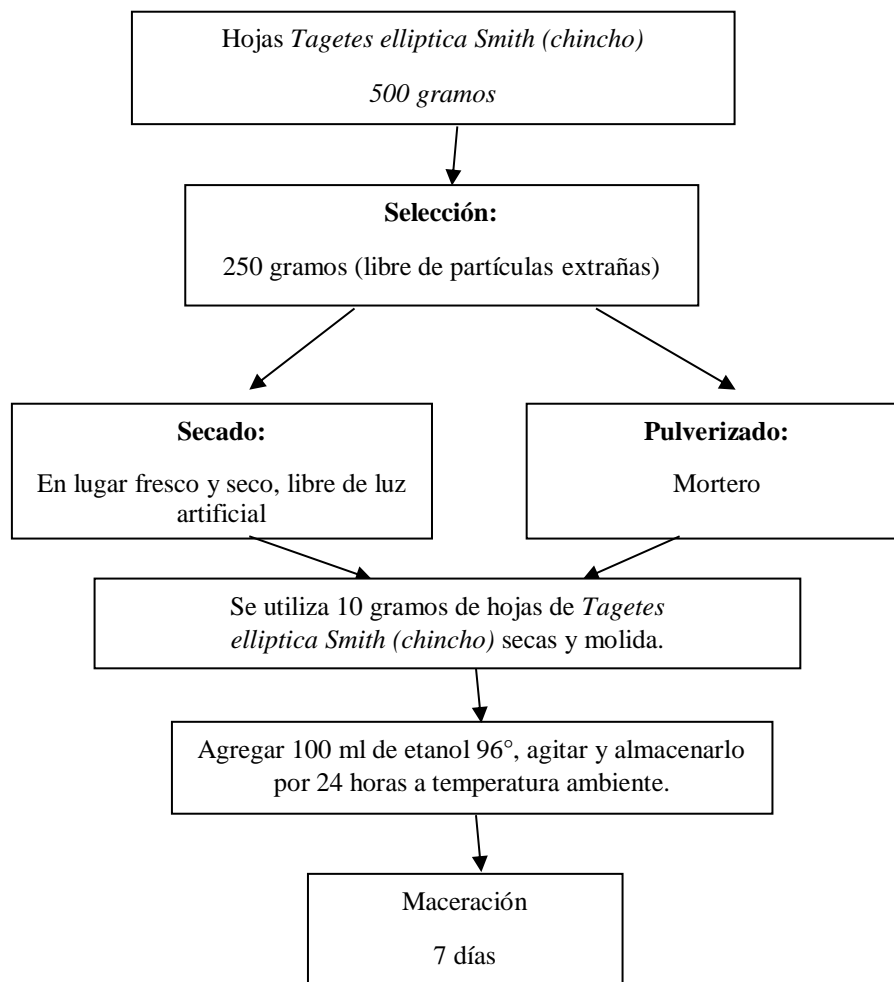


Figura SEQ Figura \\* ARABIC 6: Proceso para obtener el extracto etanólico. Donde inicia con 500gr.tras un proceso de selección, secado, pulverizado. Fuente: Elaboración propia.

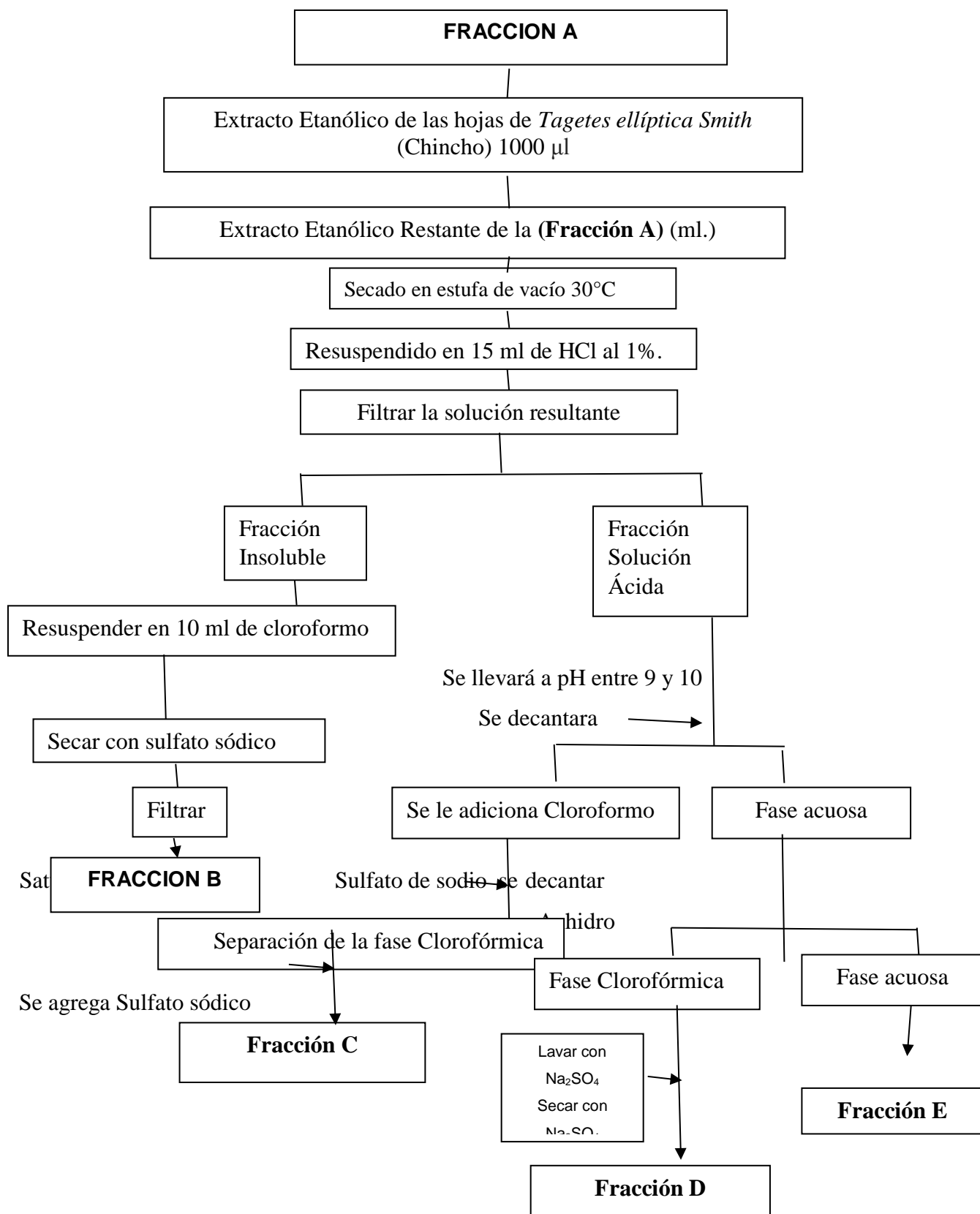


Figura SEQ Figura \\* ARABIC 7. Obtención de las fracciones A, B, C, D, E. Para la identificación de los metabolitos secundarios. Fuente: Elaboración Propia

### 3.2.2 E

#### A) Tamizaje Fitoquímico

Screening Fitoquímico (marcha o tamizaje fitoquímico), es la detección a través de reacciones de color y/o precipitación de los metabolitos secundarios.

La marcha fitoquímica preliminar se realizará de acuerdo a la metodología de Lock, (1994). Porciones de 1000 microlitros. De extracto se someterán a los siguientes ensayos: prueba de tricloruro férrico, prueba de Shinoda, prueba de Dragendorff, prueba de la gelatina, prueba de la espuma, prueba de fenoles, prueba de Kedde, prueba de Biuret, prueba de Lieberman-Burchard, y otros más convenientes al proyecto.

#### Obtención De Las Fracciones A y B

Del extracto etanólico de *Tagetes elliptica smith* se separará un volumen 1000 microlitros (Fracción A) para realizar los ensayos de  $\text{FeCl}_3$ , gelatina Shinoda y Ninhidrina. El extracto restante se secará en estufa de vacío a  $30^\circ\text{C}$ , después será resuspendido en 15 ml de HCl al 1%. Luego filtraremos la solución resultante. De este paso se obtendrá la Fracción Insoluble y la Solución Ácida. La fracción insoluble se resuspenderá en 10 ml de cloroformo, luego secaremos con sulfato sódico para después filtrar, obteniéndose la fracción B, a este resultado se le realizarán los análisis cualitativos lo cual permitirá la identificación de la presencia de esteroides y quinonas.

#### Obtención De Las Fracciones C, D y E.

La fracción ácida se llevará a pH entre 9 y 10, para luego ser colocada en una pera de separación donde se le adicionará cloroformo. Se separa la fase clorofórmica y se agrega sulfato sódico, obteniéndose la fracción C, con la cual se realizarán las pruebas cualitativas para el análisis de Cardenólidos, alcaloides y esteroides. La fase acuosa remanente será saturada con sulfato de sodio anhidro para luego colocarla en una pera de decantación con una solución de cloroformo: etanol (3:2). La fase clorofórmica será secada y resuspendida en metanol, formándose la fracción D. El remanente acuoso constituye la fracción E. La fracción D será evaluada para la presencia de flavonoides, leucoantocianidinas, cardenólidos esteroides/triterpenos y alcaloides, mientras que la fracción E podrá ser evaluada para determinar la presencia de flavonoides y leucoantocianidinas. Los resultados de la marcha fitoquímico indicaran la presencia abundante de compuestos fenólicos flavonoides, esteroides/Triterpenos y cardenólidos y de manera moderada de taninos.

## B) Prueba De Solubilidad

Se llevó a sequedad el extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* (chincho) en una estufa a 50°C hasta observar la evaporación total del solvente. Se ordenó y etiqueto los tubos de ensayo con los nombres de los solventes. Luego se añadió a cada tubo una pizca del extracto seco de la muestra problema. Posteriormente se agrega 1 mL de los solventes (hexano, cloroformo, diclorometano, etanol, metanol y agua) a cada tubo de ensayo respectivamente. Se procedió a agitar cada tubo de ensayo y se observa el grado de dilución. Por 10 minutos.



Figura SEQ Figura \\* ARABIC 8: Extracto etanólico sin

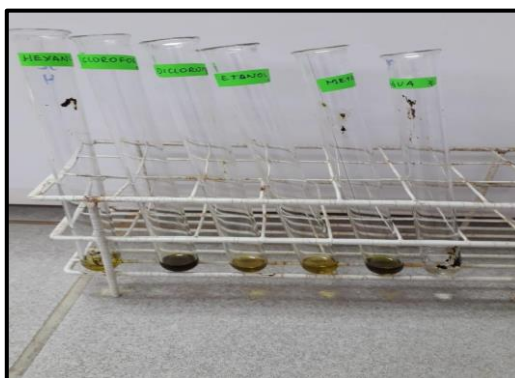


Figura SEQ Figura \\* ARABIC 9: Ensayos de solubilidad. Extracto etanólico con solventes de diferente

## C) Espectrofotometría Uv

El extracto etanólico del Chincho es analizado entre las longitudes de onda de 190 nm a 800 nm. Se utiliza como blanco etanol 96°.

## D) Determinación de polifenoles totales.

Preparación de la muestra:

Los extractos preparados al 10 por ciento se filtran y desde aquí se toman las alícuotas para los ensayos.

Se determinaron con el reactivo de Folin – Ciocalteu constituida por la (mezcla de ácido fosfotungstico y ácido fosfomolibdico) color amarillo a una coloración azul (constituida por óxidos de tungsteno y de molibdeno) por el método de Singleton y Rossi (1965), cuya finalidad es la reducción del reactivo, usando ácido gálico como estándar. Se utilizó 3 tubos de ensayo A, B, C. Se agregó 100 microlitros de la muestra problema (Extracto etanólico de las hojas secas *Tagetes elliptica* Smith, “chincho”) a los tubos A, B, C. Luego se añadió 8.4 ml de agua destilada a los tubos A, B, C. Seguidamente se agregó 1mL. De  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1N) a cada tubo A, B, C.

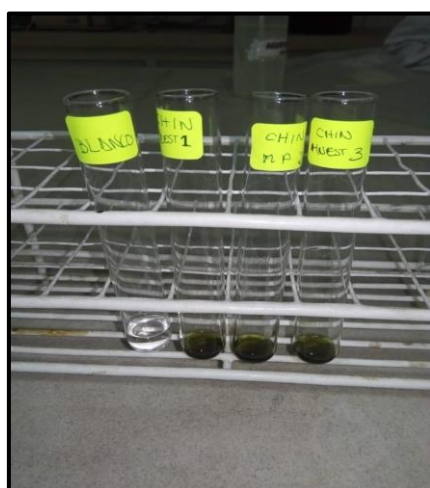


Figura SEQ Figura \\* ARABIC 10. Preparación de los tubos A, B, C, + blanco etanol. Para la determinación de polifenoles totales. Fuente:

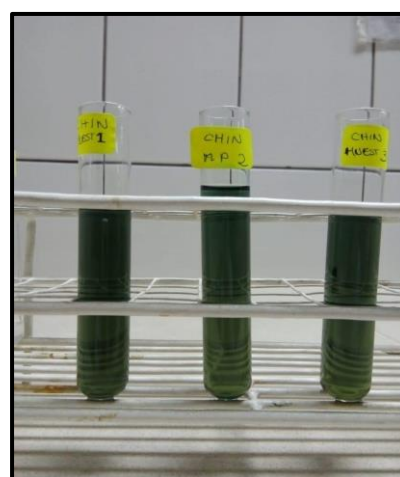


Figura SEQ Figura \\* ARABIC 11: Chincho MP 1, 2 y 3. Ilustra los tubos A, B, C (+ 100 ul.de (MP) + 8.4 ml de agua destilada. +1mL. De  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). Fuente:

Folin Ciocalteu (1N), se realiza la agitación por 30 minutos en un lugar fresco, libre de luz. La absorbancia se medirá a 760 nm y los resultados se expresarán como mg de ácido gálico equivalentes (GEA)/100 g materia seca, a partir de la curva de calibración obtenida. El blanco se preparó con Metanol 80% y se utilizó para calibrar el espectrofotómetro antes de realizar las lecturas de las muestras.

Tabla 3.  
*Determinación de Polifenoles*

N° ENSAYO	REACTIVOS			
	Ext. Eta (mL)	H <sub>2</sub> O <sub>d</sub> (mL)	NaCO <sub>3</sub> 20%(mL)	Rvo. Folin Ciocalteu (mL)
BLANCO	0	8,4	1	0,5
1	0,1	8,4	1	0,5
2	0,1	8,4	1	0,5
3	0,1	8,4	1	0,5

Muestra la determinación de polifenoles, el cual se refiere a los números de ensayo realizados. Leyenda: 1, 2,3= son repeticiones ml = mililitros de la muestra analizada, H<sub>2</sub>O<sub>dst</sub> = agua destilada, NaCO<sub>3</sub> = Carbonato de Sodio, \*Para el tubo blanco se agregó 0.1mL de metanol 80% para completar el volumen de reacción. Fuente: Elaboración propia

#### E) Preparación de la Curva de Calibración de polifenoles.

Para los resultados como equivalentes a un polifenol de referencia se preparó una curva de calibración utilizando la solución stock del estándar de ácido gálico (SIGMA) (200 mg/ml). De esta solución madre se preparan concentraciones de 50, 75, 100, 150 y 200 mg Acido Gálico/100ml.

Los reactivos se agregaron en el orden de izquierda a derecha previas homogenizaciones se dejó en reposo en oscuridad por 30 minutos. Después se lleva a la lectura en el espectrofotómetro Spectrum Pharo 300 Merck. a una longitud de onda de 760 nanómetros. y se procede como se indica en la (Tabla 5)



Tabla 4.

*Preparación de la curva de calibración para la determinación de polifenoles totales*

ENSAYOS	REACTIVOS			
	mL.	H <sub>2</sub> O dst (ml)	Na <sub>2</sub> Co <sub>3</sub> 20% (ml)	R. Folin Ciocalteu (ml)
BLANCO	0	8,4	1	0,5
50mg/100mL.	0,1	8,4	1	0,5
100mg/100mL.	0,1	8,4	1	0,5
150mg/100mL.	0,1	8,4	1	0,5
200mg/100mL	0,1	8,4	1	0,5

Indica los ensayos elaborados y un blanco de referencia, los reactivos que se utilizaron, agua destilada, carbonato de sodio, reactivo de foling. \* Para el tubo blanco se agregó 0.1ml de metanol 80% para completar el volumen de reacción. Fuente: Elaboración propia.

### G) CITOTOXICIDAD

La inhibición total o parcial del crecimiento de radículas e hipocótilos de semillas de *Lactuca sativa* (lechuga), se calculó el porcentaje de inhibición midiendo la longitud de la raíz con la muestra evaluada sobre la longitud de la raíz de la semilla control. Ticona, et al., 1998 y procedimiento Operativo Estándar implementado del Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular (UNLA).

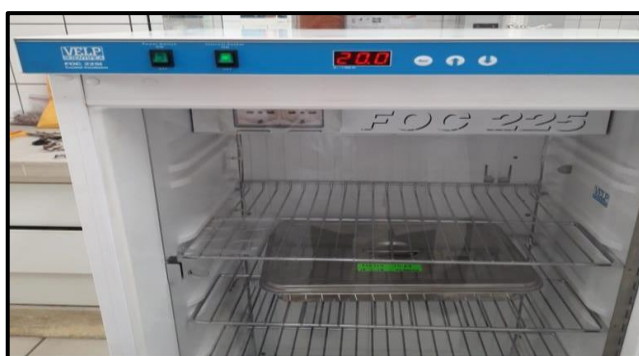


Figura SEQ Figura \\* ARABIC 12: Incubadora VELP SCIENTIFICA



Figura SEQ Figura \\* ARABIC 13: Bandeja metálica con *Lactuca sativa*. Contiene las placas con semillas de

Las semillas de lechuga no irradiadas se llevaron para el proceso de pregerminación, Se colocan las semillas elegidas en cámara húmeda (placa petri acondicionada con papel de filtro watman humedecido con agua destilada). (Ver figura 13)



Figura SEQ Figura \\* ARABIC 14: Semillas irradiadas. Placa que contiene las semillas de

Luego las placas petri se colocó dentro de la bandeja metálica con tapa las paredes internas estaban cubiertas con papel toalla humedecida. Se llevó a estufa  $T^{\circ}20^{\circ}\text{C}$  por 20 horas.



Figura SEQ Figura \\* ARABIC 15: Bandeja metálica con placas Petri. Con semillas de lechuga, para ser llevadas a estufa  $T^{\circ}20^{\circ}\text{C}$  por 20 horas. Fuente:

Se colocan discos de papel de filtro watman en 9 placas petri de 2,5 cm de diámetro y se separan en grupos de 2 placas:

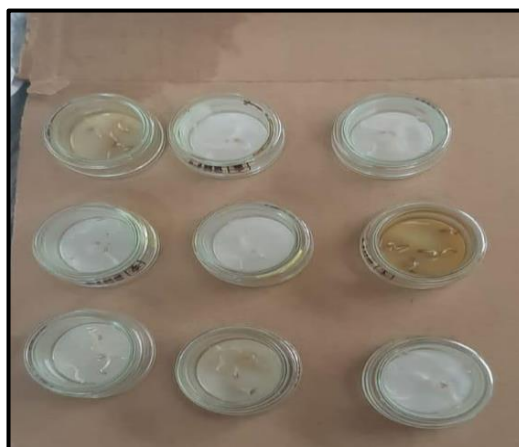


Figura SEQ Figura \\*ARABIC 16: Placas Grupo 1 y 2. Desarrollo de semillas de *Leptogenes* *Fraxin*

Se impregnan 100 uL de etanol a las placas del grupo 1 y el grupo 2, luego 100 uL del extracto, dejándose secar a temperatura ambiente. Después de transcurrir las 20 horas de pregerminación se seleccionan las semillas más homogéneas y 5 de cada una de ellas se colocan, en forma circular a 0,5 cm del borde externo del papel.

Se adicionan 700 uL de agua destilada en el centro de todas las placas, se tapan, se colocan dentro de la cámara de humedad y se incuban a 20 °C por 52 horas. Después del tiempo transcurrido se procede a medir el tamaño del hipocótilo y radículas de la semilla en todos los grupos.

### 3.2.3 Actividad antibacteriana

Para realizar este procedimiento se toma en cuenta los implementos de bioseguridad y se procede a lo siguiente:

- **Proceso de esterilización de materiales**

Los materiales (pinza, placa excavada, discos de papel de filtro, hisopos) fueron esterilizados en estufa a 180 °C por 1 hora.

- **Elaboración del medio de cultivo**

Para la elaboración del medio de cultivo fueron llevados en autoclave a 121° C por 15 minutos. Paralelamente se preparó Caldo Triptona de Soya para la activación inicial de la cepa y placas con Agar Mueller Hinton para la prueba de sensibilidad antimicrobiana.

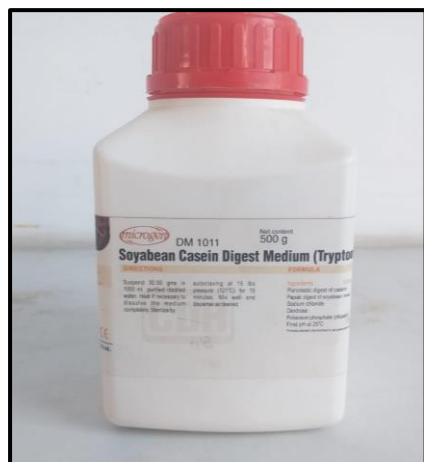


Figura SEQ Figura \\* ARABIC 17: Agar Triptona de Soya. Para activar la cepa de *Staphylococcus aureus* Fuente:

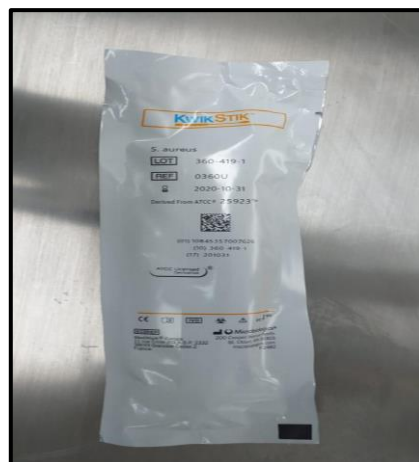


Figura SEQ Figura \\* ARABIC 18: Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Fuente: Elaboración propia

- **Elaboración del inóculo bacteriano**

La cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se cultivó en Caldo Triptona de Soya a 25 °C por 24 horas, con el fin de preparar el inóculo de los posteriores cultivos.



Figura SEQ Figura \\* ARABIC 19: Cultivo de *Staphylococcus aureus*. Inoculo bacteriano preparado en el caldo de Triptona Fuente: Elaboración propia

- **Formación de concentraciones de extracto y medicamento (control positivo)**

Para evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica smith* (Chincho), se prepararon 12 diluciones de este utilizando etanol como solvente. Además, se utilizó etanol como control y el medicamento Ceftriaxona 1 gr. como control positivo.

- **Análisis de sensibilidad antimicrobiana**

La sensibilidad del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica smith* (Chincho), se probó mediante el método de Kirby-Bauer, el cual consistió en cultivar mediante la técnica de cultivo por diseminación la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en placas Petri con agar Mueller-Hinton.

Se utilizó un hisopo estéril el cual se embebió en el cultivo bacteriano y se realizó el cultivo por diseminación, de forma homogénea en toda la superficie de la placa Petri. Luego, con la ayuda de una pinza se colocaron los discos de papel filtro estéril (n = 5) con la concentración del extracto detallado anteriormente (Figura 20) en la superficie del agar, presionándolo levemente. Finalmente, las placas se incubaron a 37 °C por 24 horas.



Figura SEQ Figura \\* ARABIC 20: Materiales para iniciar la colocación de los discos. Para ser introducidos en la placa que contiene el extracto de chincho.



Figura SEQ Figura \\* ARABIC 21: Placa con extracto vegetal para discos. Materiales para iniciar la colocación de discos que son impregnados en el extracto etanólico. Fuente: Propia.

Pasada las 24 horas se realizó la lectura de los resultados. Se midieron los halos de inhibición con la ayuda de un Vernier.



Figura SEQ Figura \\* ARABIC 22: Instrumento Vernier. Medida del diámetro de los halos antibacteriales. Fuente: Elaboración Propia.

### Análisis Estadístico

Se aplicó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de  $p \leq 0,05$  para determinar si existe diferencia significativa entre las medidas de los diámetros de halos de los tratamientos y grupos controles. Así mismo se realizó la prueba de Tukey para determinar cuál tratamiento es el óptimo.

Los resultados fueron tabulados y se elaboró un gráfico de barras con barra de error mostrando la desviación estándar. Este procedimiento se realizó en el software SPSS.

## 3.3 Población y Muestra

### 3.3.1 Población:

Según González (2016), indica que es el conjunto de sujetos u objetos que tienen características observables y comunes (p.72). La población fue constituida por hojas *Tagetes elliptica Smith* “Chincho”, cuyo peso en bruto fue de 2 326 Kg; las cuales fueron seleccionadas y procesadas, obteniendo un polvo fino de 500 g.

### 3.3.2 Muestra:

Alonso, et al (2017), señalaron: “es un subconjunto de una población” (p.141). En la muestra, está determinada por el Extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* “Chincho”, en una proporción de 10 / 100.

### 3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

#### 3.4.1 Técnica: Observación

Se emplearon las siguientes técnicas: Marcha fitoquímica basada en la metodología propuesta por Olga Lock, determinación de polifenoles totales basado en la oxidación del reactivo de Folin-Ciocalteu Muñoz-Bernal, et al 2017. La preparación de la respectiva curva de calibración utilizando como reactivo estándar ácido gálico; además de los ensayos de citotoxicidad en semillas de *Lactuca sativa*, y las pruebas de actividad antibacteriana in vitro mediante la prueba de disco difusión utilizando como cepa, *Staphylococcus aureus* ATC 25923. En todos estos métodos se utilizó la observación como técnica inicial para la obtención de datos resultados. Rivero (2013).

#### 3.4.2 Instrumento: Ficha de Recolección de Datos.

Se utilizaron fichas técnicas de elaboración propia, para la recolección de datos: Marcha fitoquímica, solubilidad, determinación de polifenoles, preparación de la curva de calibración de polifenoles; además de los ensayos de citotoxicidad en semillas de *Lactuca sativa* (radícula e hipocótilo) y las pruebas de actividad antibacteriana in vitro mediante la prueba de disco difusión utilizando como cepa *Staphylococcus aureus* ATC 25923. Ver fichas técnicas 1, 2, 3, 4, 5 y 6.

### 3.5 Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos

Se realizó doce (12) ensayos con diferentes concentraciones (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 y 10 %, un Control (etanol 96°) y Ceftriaxona (vial 1g. más agua destilada). Cada ensayo fue con cinco (5) repeticiones. Analizaron las variables de los resultados con el programa SPSS: ANOVA (Analysis Of Variance, genetista R. A. Fisher .1920 y 1930). Viñán (2012). Asimismo, fue necesario realizar un procedimiento adicional, llamado prueba de medias, más conocida como prueba de Tukey (John W. Tukey).

- Prueba de Tukey: Para Dagnino (2014), este método se utiliza en ANOVA para establecer intervalos de confianza para todas las diferencias en parejas (entre las medias de los niveles de los factores), por consiguiente, controla, en un nivel específico, la tasa de error por familia.

## Capítulo IV

### Presentación y Análisis de los Resultados

#### 4.1 Presentación de los Resultados

Rendimiento del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* “chincho. Se obtuvo 2,57 g de extracto etanólico en 100 g de hojas.

Tabla 5.

*Rendimiento del extracto etanólico.*

ESPECIE	SOLVENTE	Peso/hojas g	Peso/ext sec	%R
<i>Tagetes</i>				
<i>ellíptica Smith</i>	Etanol 96°	900	21,36	2,37
“chincho”				

Señala el rendimiento del extracto etanólico, para lo cual se tomó en cuenta el solvente, (Etanol 96°) peso de las hojas secas y molidas en (900 gr). Peso del extracto seco (21,36) y el porcentaje de resultado, (2,37 %) Fuente: Elaboración propia.

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Peso extracto seco}}{\text{Peso de hojas y tallos molidos}} \times 100$$



Figura SEQ Figura \\* ARABIC 23: Balanza de precisión. Ilustra el peso de hojas molidos del *Tagetes elliptica Smith* “chincho”. Fuente: Elaboración Propia.



Tabla 6.

*Resultado de la Marcha fitoquímica.*

REACTIVO	METABOLITO	RESULTADO	EQUIVALENTE
Ninhidrina	Aminoácidos	(-)	0
Gelatina	Taninos	(++)	2
Tricloruro férrico	Fenoles	(+++)	3
Shinoda	Flavonoides	(+++)	3
Lieberman Burchard	Esteroides	(+++)	3
Lieberman Burchard	Triterpenos	(++)	2
Bomtrager	Antraquinonas	(+)	1
Kedde	Cardenólidos	(+)	1
Lieberman Burchard	Esteroides	(+++)	3
Lieberman Burchard	Triterpenos	(-)	0
Mayer	Alcaloides	(-)	0
Dragendorff	Alcaloides	(-)	0
Shinoda	Flavonoides	(-)	0
Rosenheim	Leuco-antocianidinas	(-)	0
Kedde	Cardenólidos	(+++)	3
Lieberman Burchard	Esteroides	(+)	1
Lieberman Burchard	Triterpenos	(+)	1
Mayer	Alcaloides	(-)	0
Shinoda	Alcaloides	(-)	0
Rosenheim	Leuco-antocianidinas	(-)	0

Presenta los resultados de las pruebas químicas realizadas al extracto etanólico de *Tagetes elliptica Smith* “chincho” siguiendo el modelo de la Dra. Olga Lock (Marcha Fitoquímica), que evidenciaron la presencia de fenoles, flavonoides, esteroides y cardenólidos en abundancia (+++), así como taninos, triterpenos en cantidad moderada (++); mientras que antraquinonas y cardenólidos en escaso contenido (+); asimismo, se visualiza la no presencia de aminoácidos, alcaloides y leucoantocianidinas (-). Fuente: Elaboración propia.

**Prueba de Solubilidad:**

El extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* “chincho seco, resultó ser insoluble solamente en agua y soluble en solventes orgánicos.

Tabla 7:

*Solubilidad del extracto etanólico de hojas Tagetes elliptica Smith "chincho"*

Solventes	Resultados
Cloroformo	+++
Metanol	++
Etanol	+++
Diclorometano	++
Hexano	+++
Agua Destilada	+

Indica la Solubilidad del extracto etanólico de *hojas Tagetes elliptica Smith "chincho"* con sus respectivos solventes y sus resultados valorados en (muy soluble +++, medianamente soluble ++, poco soluble -) Fuente: Elaboración propia

#### Espectrofotometría UV:

Se observan 3 picos de mayor absorbancia A, B, C. El pico A se encuentra en el rango de 190 a 215 nm, donde la mayor absorbancia 0,7 corresponde a una longitud de onda ( $\lambda$ ) de 204 nm; el pico B se encuentra en el rango de 380 a 420 nm, donde la mayor absorbancia 0,306 corresponde a un  $\lambda$  de 414 nm, finalmente el pico C se encuentra en el rango de 600 a 670 nm, donde la mayor absorbancia 0,152 corresponde a un  $\lambda$  de 665 nm.

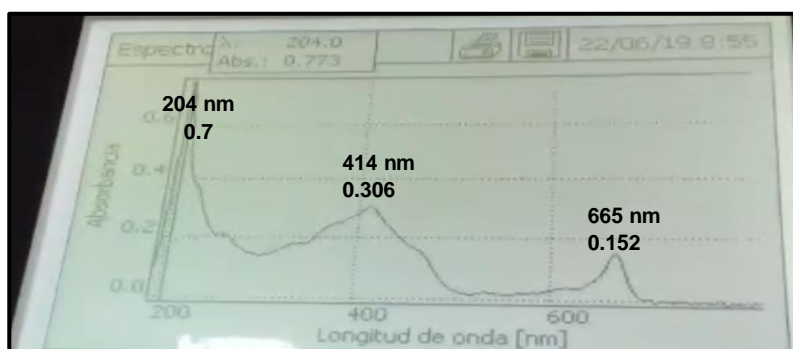


Figura 25: Espectrofotometría de las absorbancias del chincho. Espectrofotometría de las absorbancias del chincho. Muestra 3 picos de diferente longitud. Fuente: Elaboración propia.

#### Polifenoles Totales

A partir del ensayo de cuantificación de polifenoles totales se obtiene una concentración de 3,2 mg ácido gálico equivalente /100g de muestra seca.

Tabla 8:

*Resultado de polifenoles totales*

CHINCHO	
M1	0,811
M1	0,796
M1	0,745
PROM	0,784
m=	0,2823
b=	0,11
X=	3,2

Concentración	Abs	mg/10ml	mg/100ml
Repetición 1	0,811	3,262	32,6248672
Repetición 2	0,796	3,209	32,0935175
Repetición 3	0,745	3,029	30,2869288
		Promedio	31,6684378

Tabla 8: muestra el resultado de polifenoles totales con concentraciones de repetición 1, 2,3. Abs (mg/10ml), (mg/100ml) y un promedio de 31,6684378. Fuente: Elaboración propia.

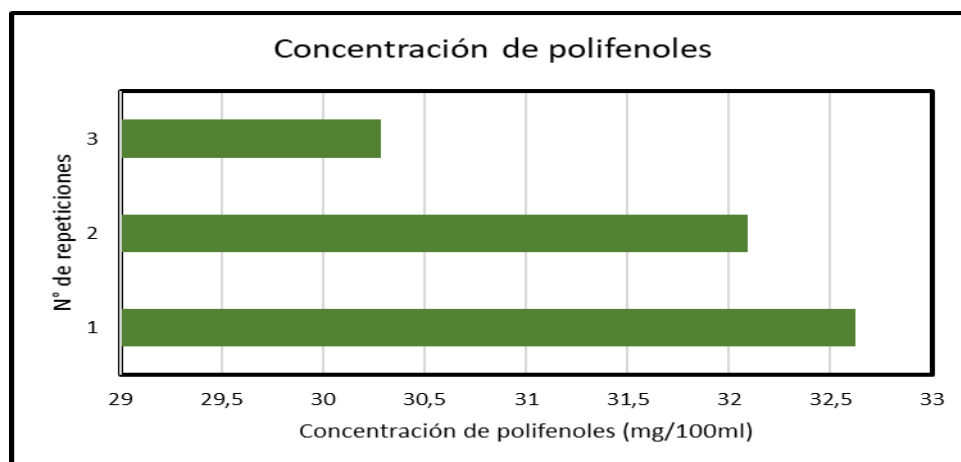


Figura SEQ Figura \\* ARABIC 26: Concentración de polifenoles. Numero de repeticiones 1, 2,3, barras de diferente medida. Con referencia (mg/100MI) Fuente: Elaboración propia.

Tabla 9:

*Resultado de la curva de calibración de los polifenoles*

Concentración	Abs Prom
0,5mg/mL	0,197
1mg/mL	0,448
1,5mg/mL	0,676
2mg/mL	1,062

Tabla 9: muestra a cuatro concentraciones ,0.5mg/ml= Abs Prom. (0,197), 1mg/ml=0,448; 1,5 mg/ml= 0,676; 2mg/ml=1,062. Fuente: Elaboración propia

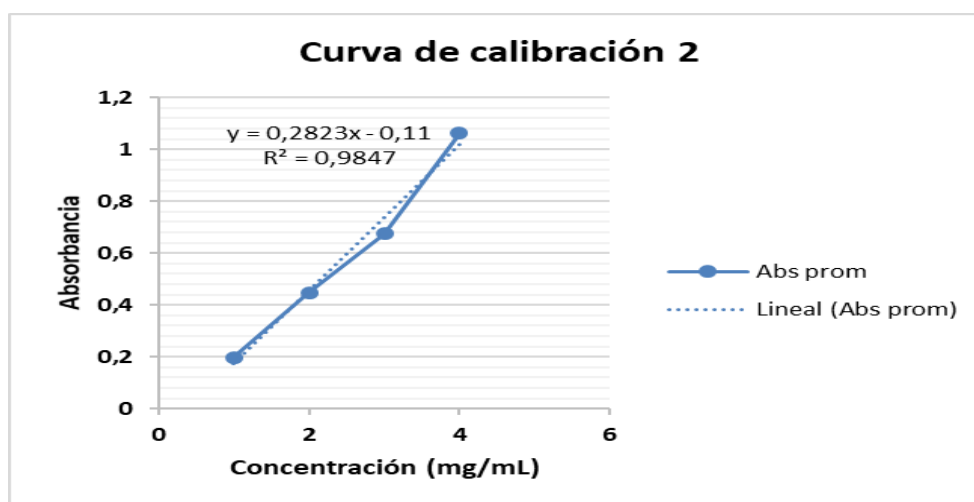


Figura SEQ Figura \\* ARABIC 27: Gráfica de la curva de calibración de polifenoles totales. Con sus absorbancias promedio y su concentración en (mg/ml). Fuente: Elaboración propia.

**Citotoxicidad:**

Los ensayos de citotoxicidad realizados demuestran un mayor porcentaje de inhibición con las concentraciones de 100 y 30 mg/mL del extracto etanólico de chincho y una menor actividad citotóxica con las concentraciones de 0,1mg y 0,3mg.

Tabla 10:

*Resultado alelopático de las radículas*

<b>Concentraciones</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>
100 mg	1,40	0,55
30 mg	1,20	0,45
10 mg	2,80	1,79
3 mg	6,00	2,24
1 mg	6,20	2,17
0,3 mg	7,60	2,41
0 mg (control)	9,00	0,71

Tabla 10: muestra el resultado de la alelopatía de las radículas, en las concentraciones de 100 mg 30mg, 10mg, 3mg, 1mg, 0,3mg, 0,1mg, 0mg. Con sus respectivos promedios y su desviación estándar. Fuente: Elaboración propia

Tabla 11:

*Resultado alelopático de los hipocótilos*

<b>Concentraciones</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>
100 mg	1,60	0,55
30 mg	2,20	0,45
10 mg	3,40	0,55
3 mg	6,60	3,13
1 mg	7,40	2,30
0,3 mg	7,60	1,34
0,1 mg	9,60	0,55
0 mg (control)	4,60	0,55

Tabla 11: muestra el Resultado de la alelopatía de los hipocótilos, en sus respectivas concentraciones 100mg, 30mg, 10mg, 3mg, 1mg, 0,3mg, 0,1mg, 0mg. Con sus respectivos promedios y su desviación estándar. Fuente: Elaboración propia.

Tabla 12:

*Resultado de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico*

Concentraciones	Promedio	Desviación estándar
Medicamento	61,42	16,30
E.E. 100%	37,64	3,21
E.E. 90%	32,52	1,65
E.E. 80%	31,76	4,44
E.E. 70%	25,64	9,93
E.E. 60%	19,90	13,32
E.E. 50%	13,98	3,52
E.E. 40%	13,20	7,35
E.E. 30%	12,30	5,40
E.E. 20%	11,44	3,49
E.E. 10%	11,16	1,63
Control	15,66	8,50

Tabla 12: muestra el resultado de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico del chincho in vitro frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Se visualiza 10 concentraciones, también el medicamento que se utilizó como control positivo (ceftriaxona 1 gr.), y un control etanol. El cual detalla los promedios y desviación estándar correspondiente. Fuente: Elaboración propia



Figura 28: Determinación de los halos inhibitorios del *Tagetes elliptica* (chincho). Determinación de los halos inhibitorios del *Tagetes elliptica* (chincho). En concentraciones, (control 1, extracto 2 al 100%, Extracto 3 al 90%). Fuente: Elaboración propia.

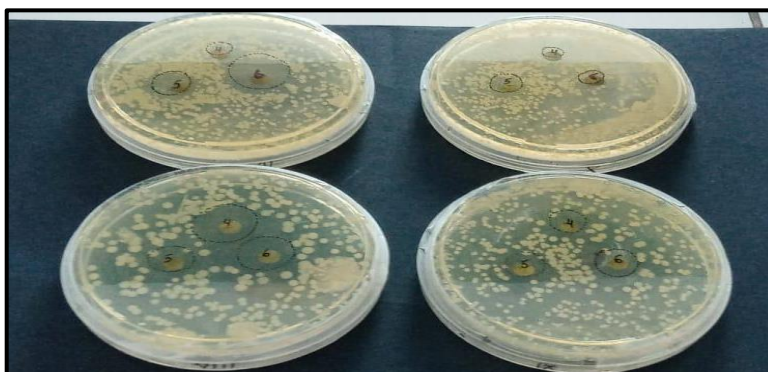


Figura SEQ Figura \\* ARABIC 29: Determinación de los halos inhibitorios. *Tagetes elliptica Smith* (chincho) en concentraciones de, ( extracto 4 al 80%, extracto 5 al 70%, extracto al 60%). Fuente: Elaboración propia.

## 4.2 Prueba de Hipótesis

### 4.2.1 Hipótesis General

La Caracterización química del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica* Smith (*chincho*) contiene metabolitos secundarios que determinan la Actividad antibacteriana.

$H_0$  = Todas las concentraciones presentan igual inhibición del halo ( $p > 0,05$ )

$H_a$  = Todas las concentraciones o una de ellas presenta diferente halo de inhibición ( $p < 0,05$ ).

Como el nivel de significancia es 0,05 y “p” resultado es menor a ese valor, se rechaza la hipótesis nula y se confirma la alterna, por consiguiente, estadísticamente existe variación en el halo de las concentraciones ensayadas; por lo que se asume el extracto etanólico de chincho posee actividad antibacteriana frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. (Ver tabla 17). Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna

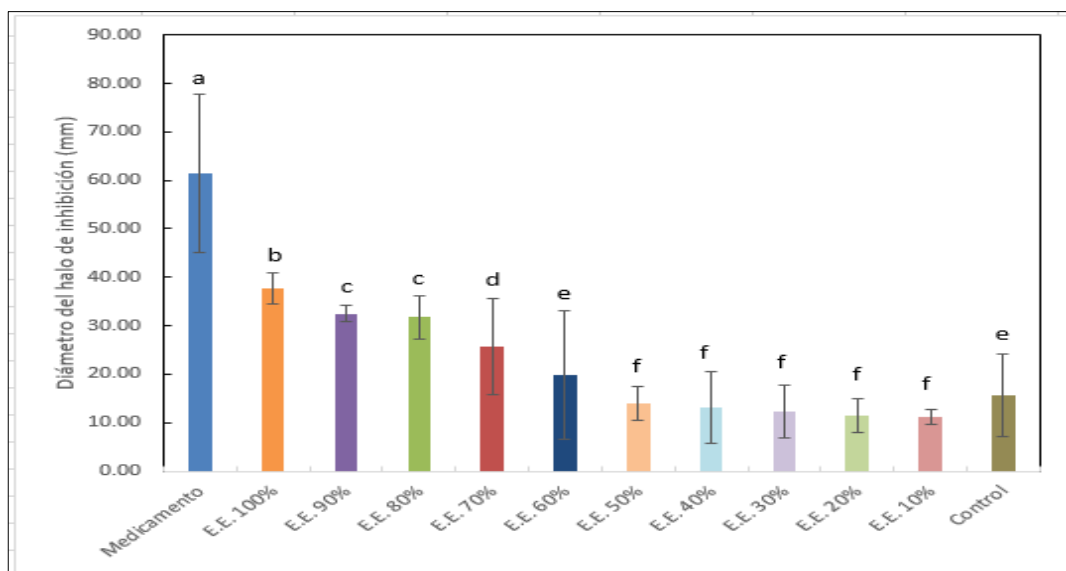


Figura SEQ Figura \* ARABIC 30: Gráfica estadística en barras de la actividad antibacteriana del chincho. Frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, donde indica según Tukey la semejanza entre los promedios de los ensayos realizados. El tamaño de la barra de la concentración. Fuente: Elaboración propia.

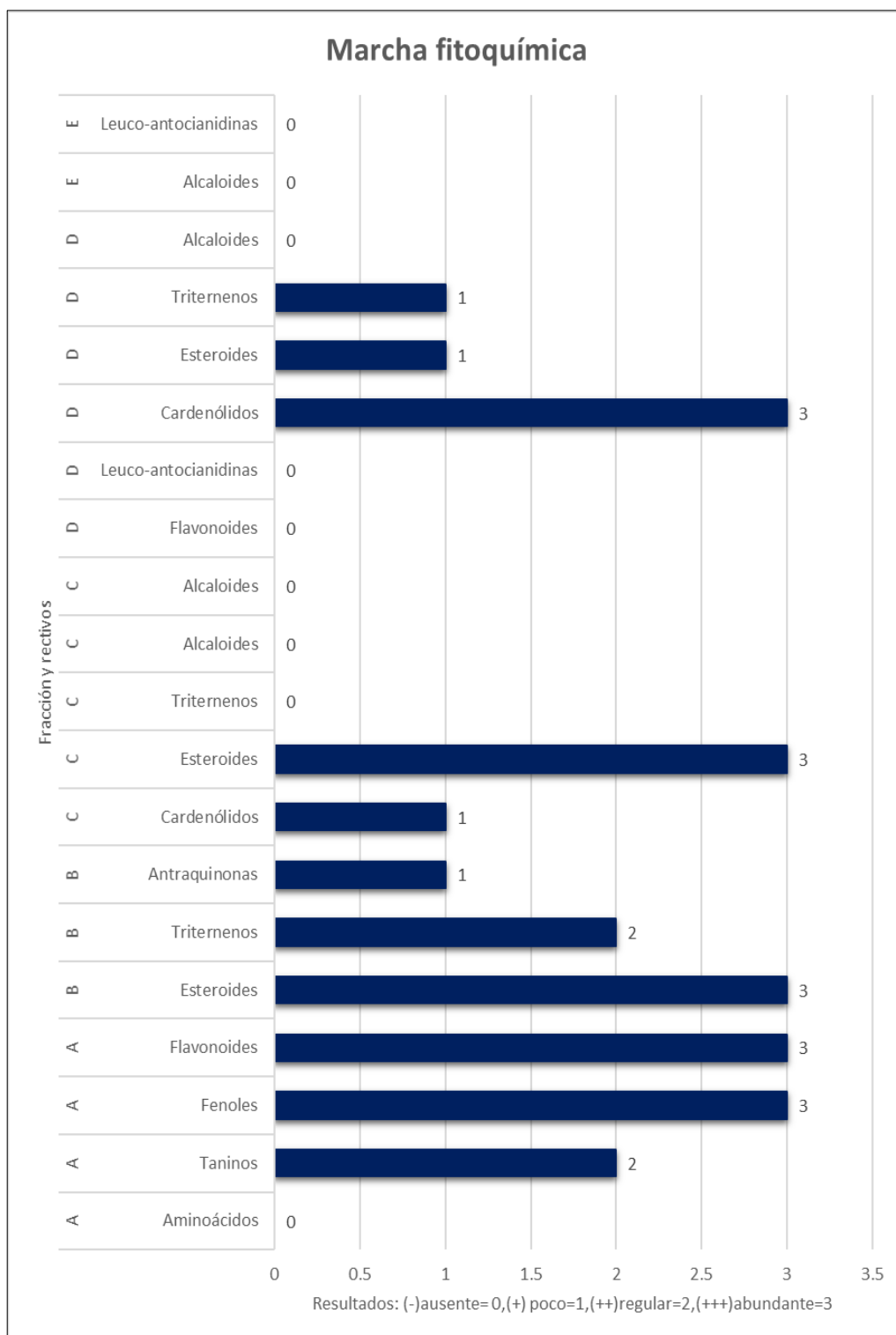


Figura 31: Histograma del Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica* Smith (Chincho). Donde exhibe que los cardenólidos, esteroides, flavonoides y fenoles son los metabolitos secundarios en mayor proporción (+++) que los demás. Fuente: Elaboración propia.



#### 4.2.2 Hipótesis Específicas.

- El extracto etanólico de *Tagetes elliptica Smith* (Chincho) presenta alelopatía (citotoxicidad) en una concentración de 30mg/ml. frente a semillas de *Lactuca sativa*

$H_0$ = El extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* (Chincho) no presenta alelopatía (citotoxicidad) en una concentración de 30mg/ml. frente a semillas de *Lactuca sativa*.

$H_a$  = El extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* (Chincho) presenta alelopatía (citotoxicidad) en una concentración de 30mg/ml. frente a semillas de *Lactuca sativa*.

El extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* (Chincho) presenta alelopatía (citotoxicidad) frente a semillas de *Lactuca sativa* (Lechuga), tanto en radículas e hipocótilos. Resultados fueron evaluados por ANOVA y TUKEY. (Ver tablas 13, 14, 15 y 16. Figuras 31 y 32)

Tabla 13:

*Alelopatía (citotoxicidad) en radículas.*

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	360,800	7	51,543	11,084	,000
Dentro de grupos	148,800	32	4,650		
Total	509,600	39			

Muestra el Gráfico de la significancia de la citotoxicidad del chincho en radículas de semillas de *Lactuca sativa* El valor de significancia "p" = ,000. Entonces, se puede señalar que existe alelopatía (citotoxicidad) sobre las radículas de semillas de *Lactuca sativa*, cuando estas son sometidas al extracto etanólico del chincho. Fuente: Elaboración propia

**Tabla 14:**

*Muestra de grupos homogéneos de radículas en las concentraciones de Chincho.*

HSD Tukey<sup>a</sup>

	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
30 mg	5	1,20000000		
100 mg	5	1,40000000		
10 mg	5	2,80000000	2,80000000	
3 mg	5		6,00000000	6,00000000
1 mg	5		6,20000000	6,20000000
0,3 mg	5			7,60000000
0,1 mg	5			9,00000000
0 mg (control)	5			9,00000000
Sig.		,934	,235	,378

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5000. Fuente: Propia.

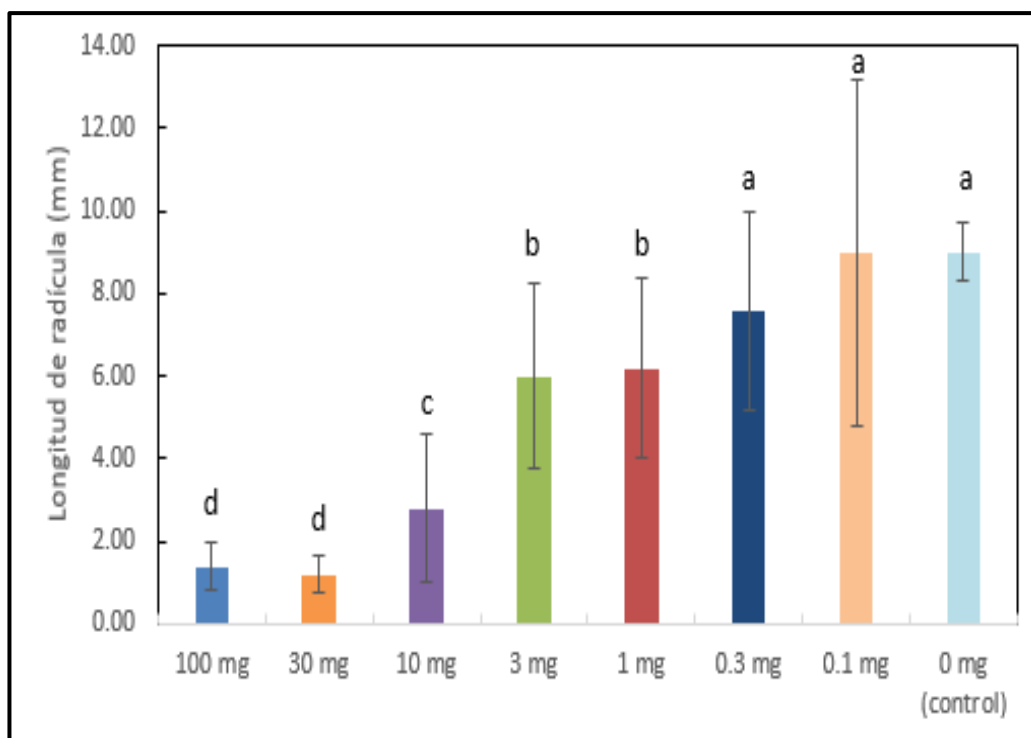


Figura 32. Gráfica del crecimiento de radícula (mm). En diferentes concentraciones comparado con un control. Realizando la prueba de Tukey, se observa que las concentraciones de 0,1 mg y 0,3mg tienen promedios de 9mm y 7.60 mm respectivamente. Sin embargo, los ensayos de 30 mg y 100mg indican una media de 1,20 mm y 1,40 mm a proporción. Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 15:***Alelopatía (Citotoxicidad en hipocótilos)*

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	286,175	7	40,882	17,872	,000
Dentro de grupos	73,200	32	2,288		
Total	359,375	39			

Muestra el Gráfico de la significancia de la citotoxicidad del chincho en hipocótilos de semillas de *Lactuca sativa*. El valor de significancia "p" = ,000. En consecuencia, se puede señalar que existe alelopatía (citotoxicidad) sobre el hipocótilos de semillas de *Lactuca sativa*, cuando estas son sometidas al extracto etanólico del chincho. Fuente: Elaboración propia

**Tabla 16:***Muestra de grupos homogéneos de hipocótilos en las concentraciones de chincho.**HSD Tukey<sup>a</sup>*

	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
100 mg	5	1,60000000		
30 mg	5	2,20000000		
10 mg	5	3,40000000		
0 mg (control)	5	4,60000000	4,60000000	
3 mg	5		6,60000000	6,60000000
1 mg	5		7,40000000	7,40000000
0,3 mg	5		7,60000000	7,60000000
0,1 mg	5			9,60000000
Sig.		,063	,063	,063

Se visualizan las cantidades (100mg,30mg,10mg, (0mg=control),3mg,1mg,0,3mg,0,1mg,). Las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. <Alfa> utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

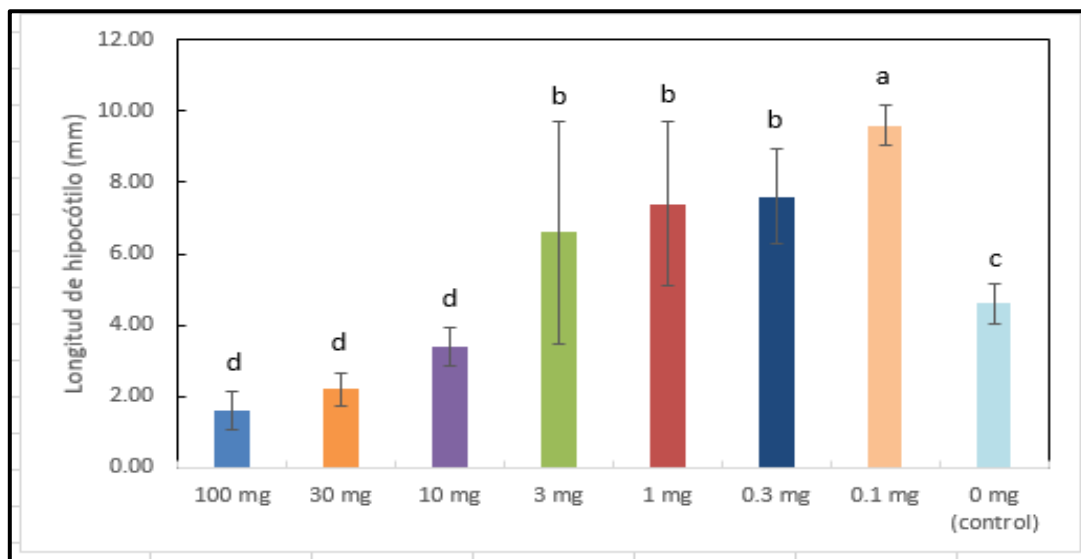


Figura 33: Histograma del crecimiento de hipocótilos en diversas concentraciones. El tamaño de las hipocótilos, podemos observar en 01 mg (concentración) hay mayor tamaño en promedio 9 mm y la de menor tamaño en promedio 1,60 mm lo tiene la concentración de 100 mg Fuente: Elaboración propia.

- El extracto etanólico de *Tagetes elliptica* Smith (Chincho) presenta actividad antibacteriana en una concentración de 100% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

$H_0$  = El efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica* Smith (Chincho) no presenta actividad antibacteriana en una concentración de 100% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

$H_a$  = El efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica* Smith (Chincho) si presenta actividad antibacteriana en una concentración de 100% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

- El resultado del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica* Smith (Chincho) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, si presenta en una concentración de 100%. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna. (Ver tablas 17 y 18. Figura 29).

**Tabla 17:***Microbiología: Actividad Antibacteriana*

## ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	12422,800	11	1129,345	17,973	,000
Dentro de grupos	3016,116	48	62,836		
Total	15438,916	59			

Muestra el Gráfico de la significancia de la actividad antibacterial del chincho. El nivel "p" de significación es:  $p < 0,05$ . Del gráfico se deduce que  $p = ,000$  Por consiguiente, existe actividad antibacterial in vitro en el extracto etanólico de *Tagetes elliptica Smith* "chincho", frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en concentraciones diferentes de 50 a 100 %. Fuente: Elaboración propia

## ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	12422,800	11	1129,345	17,973	,000
Dentro de grupos	3016,116	48	62,836		
Total	15438,916	59			

**Tabla 18:***Subconjuntos homogéneos de extracto etanólico.*HSD Tukey<sup>a</sup>

	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
E.E. 10%	5	11,16000000			
E.E. 20%	5	11,44000000			
E.E. 30%	5	12,30000000			
E.E. 40%	5	13,20000000			
E.E. 50%	5	13,98000000			
Control	5	15,66000000	15,66000000		
E.E. 60%	5	19,90000000	19,90000000		
E.E. 70%	5	25,64000000	25,64000000	25,64000000	
E.E. 80%	5		31,76000000	31,76000000	
E.E. 90%	5		32,52000000	32,52000000	

E.E. 100%	5			37,64000000	
Medicame.	5				61,42000000
Sig.		,178	,060	,430	1,000

Se visualizan los subconjuntos homogéneos del extracto etanólico, descritas en porcentajes, con sus respectivas cantidades las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. <Alfa> utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.  
Fuente: Elaboración propia

#### 4.2.3 Verificación de Hipótesis

- **Hipótesis nula**

El extracto de etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* (Chincho) no presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

- **Hipótesis alterna.**

El extracto de etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* (Chincho) si presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Obtenidos los resultados analizados del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* (Chincho) tiene efecto antibacteriano, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Se acepta la hipótesis alterna.

#### 4.3 Discusión de los Resultados.

- En la Caracterización química realizada con el extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica smith* (chincho) se encontraron metabolitos secundarios, quienes han sido asociados con cualidades que incluyen en la actividad antimicrobiana, no solo en bacterias gram positivas como el *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sino también en bacterias gram negativas y algunas propiedades curativas contra patógenos. Comparando con Villafuerte (2017) en su investigación sobre la Evaluación de la actividad antimicrobiana, de los extractos etanólico y acuoso de *Tagetes multiflora kunth* “chinche” donde los resultados del estudio fitoquímico demostró que fueron sensibles al extracto etanólico seco de *Tagetes multiflora kunth* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25933. Esto se debe por sus principales componentes químicos de los extractos. Los resultados de la caracterización química del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica smith* (chincho) se pueden apreciar en la (tabla 16), donde refiere el contenido de metabolitos encontrados como taninos, fenoles, flavonoides, esteroides, triterpenos, saponinas no presenta alcaloides. Llegando a

coincidir con Villafuerte (2017). Encontrando en su investigación la presencia de metabolitos como Polifenoles, taninos, aminoácidos libres, flavonoides, triterpenoides y esteroides, antocianinas y flavonoides, demostrando que en su extracto etanólico no presenta alcaloides y compuestos con grupo carbonilo. El resultado de la cantidad encontrada de Polifenoles en sus tres repeticiones del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica smith* (chincho), ver la (figura 25) indica la concentración (1, 2,3) alcanzando en la primera repetición 32,5 (mg/100ml). Cantidad importante que influye en la actividad antibacteriana. Por otro lado, Hidalgo, et al (2019), cuando investigaron el efecto in vitro de *Tagetes minuta* (huacatay) frente a *Pseudomona aeruginosa*, realizaron el screening fitoquímico, de la planta encontrando polifenoles (alcaloides y flavonoides), el cual le da importante actividad antimicrobiana a 20mg/ml. Así mismo Sánchez (2018), en la ciudad de Lima realizó el estudio sobre el efecto del aceite esencial de las hojas del *Tagetes minuta* (huacatay) encontrando importantes compuestos fenólicos que le otorgan actividad microbiana. Sin embargo, Gutiérrez, et al (2018), cuantificó los polifenoles totales (método Folin Ciocalteu) del extracto hidroalcohólico de 30% de *Tagetes lucida Cavanilles*, confirmando las propiedades que ambos referimos.

- El extracto etanólico de Hojas *Tagetes elliptica Smith* “chincho”, tiene actividad alelopática (inhibitoria) en bioensayos de *Lactuca sativa* (Lechuga), en las concentraciones de 10 mg de extracto en mención; en diluciones de 30 y 10 mg. Comparando con Villafuerte (2017), en la ciudad de Lima, expresó en su Tesis, que *Tagetes multiflora kunth* “chincho” presenta actividad citotóxica (alelopatía) moderada contra *Artemia salina* (CYTED).
- El extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* “Chincho”, presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en concentraciones de 100, 90 y 80%. Pimentel, et al (2015), afirmaron en su estudio realizado que si existe dicha actividad en *Tagetes elliptica* (chincho) y *Origanum vulgare* (orégano). En la investigación de Villafuerte (2017), los resultados alcanzaron frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25933 una inhibición de (15,67 + 1,15 mm).

## Capítulo V

### Conclusiones y Recomendaciones

#### 5.1 Conclusiones

- En virtud de los resultados obtenidos, se resuelve, que la principal caracterización química de extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* (Chincho), si tiene actividad antibacteriana in vitro frente a *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923, en su mayor concentración. Se obtuvo del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* “Chincho” la identificación de los principales metabolitos bioactivos como fenoles, flavonoides, esteroides y cardenólidos en abundancia (+++), mediante el tamizaje fitoquímico. Al ser una prueba cualitativa conviene citar a Van Dalen y Meyer (1994) pag.193.
- Se determinó que existe alelopatía (citotoxicidad) en el extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* “Chincho”, frente a semillas de *Lactuca sativa* (lechuga), ya que se observó la inhibición en el crecimiento de radícula e hipocótilo.
- Se obtiene mayor actividad antibacteriana en las concentraciones de 80, 90 y 100% del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* “Chincho” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



## 5.2 Recomendaciones

- Se sugiere ampliar el estudio para determinar la cantidad de polifenoles que conlleva a la actividad antibacteriana de *Tagetes elliptica Smith* (chincho)
- Se aconseja realizar la alelopatía en *Artemia salina* para tener variedad de resultados con respecto a la citotoxicidad del *Tagetes elliptica Smith* (chincho).
- Para realizar los estudios futuros de la planta “chincho”, se sugiere obtener en diferentes épocas del año (verano, otoño, invierno y primavera), muestras del material vegetal mencionado, para determinar mayor o menor cantidad de metabolitos y así obtener el mayor provecho de la misma.

## Referencias Bibliográficas

- Alarcón, F.J. (2001). *Facultad de Ciencias Agrarias Escuela de Agronomía* (Doctoral dissertation, Universidad Austral de Chile). Chile.
- Almeida, A., Mathews, R., Cifrian, E. *Staphylococcus aureus* invasion of bovine mammary epithelial cells. *J Dairy Sci* 1996; 79: 1021-1026. Colombia.
- Alonso, C., Arboleda, M., Rivera-Triviño, F., Mora, Y., Tarazona, R., & Ordoñez-Morales, P. J. *Qualitative marketing research techniques applied to consumers of fresh fruit. Estudios Gerenciales*, 33(145), 412-420. 2017. Colombia.
- Alternativa ecológica. Lima: *Alternativa ecológica*; 2011 (citado 19 mayo 2019). Disponible en: <http://ecosiembra.blogspot.com/2011/04/principales-hierbas-aromaticas-y.html>. Perú.
- Amaya, J., Dir<sup>a</sup>. *Marketing de Grupo Agrotecnología*. www.infoagro.com › Documentos. 2016. España.
- Arévalo, A., Bertoncini, I., Aranda, M., & González, A. *Alelopatía en Saccharum spp. (caña de azúcar)*. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 15(1), 51-60. 2011. México.
- Avello Lorca, M., López Canales, C., Gatica Valenzuela, C., Bustos Concha, E., Brieva Chait, A., Pastene Navarrete, E., & Bittner Berner, M. (2012). *Efectos antimicrobianos de extractos de plantas chilenas de las familias Lauraceae y Atherospermataceae*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(1), 73-83.
- Ayala Naranjo, N. S., & Calle Romero, A. K. *Aplicación de técnicas de deshidratación, maceración y escaldado, para la conservación de manzanas Red Delicious, Flor de Mayo y Emilia* (Bachelor's thesis). 2016. Ecuador.
- Badui D., S. *Química de los alimentos*. Pearson Educación. 2016. México.
- Barba Loor, E. *Elaboración de licor de mamey (Mammea Americana) por el método de maceración para la aplicación en el área de mixiología, Riobamba 2013* (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo). 2014. Ecuador.
- Bastidas C., M. *Obtención de licor de Coca (Erythroxylum coca) var. Lamarck por maceración-Satipo*. 2011. Perú.
- Belloso, W. H. *Historia de los antibióticos*. *Rev Hosp Ital B Aires Dic*, 29, 102-11. 2009. Argentina.
- Brack E. 1999 *Diccionario Enciclopédico plantas medicinales del Perú*. Cuzco.

- Camarena J y Sánchez R. *Infección por Staphylococcus aureus*. 2016. España.
- Camaró-Sala, M., Martínez-García, R., Olmos-Martínez, P., Catalá-Cuenca, V., Ocete Mochón, D., & Gimeno-Cardona, C. *Validación y verificación analítica de los métodos microbiológicos. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(7), e31-e36. 2015. España.
- Castañón-Sánchez, C. *Patogenia molecular de Staphylococcus aureus. Evidencia Médica e Investigación en Salud*, 5(3), 79-84. 2012. México.
- Collignon PJ, McEwen SA. *One Health—Its Importance in Helping to Better Control Antimicrobial Resistance. Trop Med Infect Dis* 2019; 4:22. Australia.
- Compagnoni, L., & Putzolu, G. (2018). *Cría moderna de las lombrices y utilización rentable del humus*. Parkstone International. Estados Unidos.
- Cordero, H. y Pinedo C. (2007). *Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de las hojas de Tagetes minuta L. en cepas de Pseudomona aeruginosa, in vitro*. Lima- Perú
- Coronado, R. *Elaboración de Una Bebida con Extracto de Zanahoria (Daucus Carota) Combinado con Zumo de Mandarina (Citrus Reticulata) y Naranja Agria (Citrus Aurantium) y Evaluación de su Capacidad Antioxidante*. 2019. Huacho. Perú.
- Cruz A., Rodríguez N., Rodríguez C. *Evaluación In Vitro Del Efecto Antibacteriano De Los Extractos De Bidens Pilosa, Lantana Cámara, Schinus Molle Y Silybum Marianos*. 2010. Colombia.
- Cruz, R., Gonzales, F., & Melanie, G. *Actividad Antibacterial*. 2018. Huancayo. Perú.
- Cruz, J Z., Mesinas, C. M., & Vázquez, I. M. *Extracción de Biopolímero a partir de Gramíneas (Zacate Carretero, Johnson y Esquilmos de caña de azúcar), adicionado con Lactosuero. TECTZAPIC*. 2015. España.
- Cuervo, R. *Manual de protocolos de microbiología general. Documento USB*. 2011. Colombia.
- Dagnino, J. *Coefficiente de correlacion lineal de pearson*. Chil Anest, 43, 150-153. 2014. Chile.
- De Cáceres V., C. *Evolución de la resistencia a antibióticos en Staphylococcus aureus* (Doctoral dissertation, Universidad Complutense). 2016. España.
- Del Muro, R., Castañeda, C., Gutiérrez, A., Hamdan, A., Bustos, J., Molina N et al. *Bacterias multirresistentes*. Rev Cienc Clín 2018; 19:20-8. México.

- Delgado Z., K. *Optimización de los métodos de obtención de la capsaicina del ají limo (Capsicum sinense jacq) para la determinación de la dosis letal (DL50) del pulgón verde (aphididae)*. 2018. Perú
- Díaz A., Rodríguez H., Scull R. *Citotoxicidad De Extractos De Plantas Soria N., Ramos P. Uso De Plantas Medicinales En La Atención Primaria De Salud En Paraguay: Algunas Consideraciones Para Su Uso Seguro Eficaz*. 2015.Paraguay.
- Díaz C., C. *Actividad Antibacteriana “In Vitro” del Aceite Esencial de Matico (Piper aduncum) sobre (Staphylococcus aureus)*. 2019. Perú.
- Díaz J., L. *Estructura Química Del Extracto Acuoso Y Etanólico De Las Hojas De Tagetes Elliptica Sm. “Chincho”, Actividad Antibacteriana Y Antifúngica En La Aplicación De Un Alimento Andino*. 2014. Lima - Perú.
- Díaz R., K. *Estandarización del proceso de obtención de antocianinas a partir de callos de mora (Rubus glaucus Benth) mediante la técnica de suspensiones celulares*. 2019. Colombia.
- Duque, G., & Acero, F. *Composición y funciones de la flora bacteriana intestinal. Revista Repertorio de Medicina y Cirugía*, 20(2), 74-82. 2011. Colombia.
- Fernández, M. *Sistema integrado de producción agropecuaria sostenible*. 2017. Colombia.
- Ferraro, G. E., Martino, V. S., Bandoni, A. L., & Nadinic, J. L. *Fitocosmética: fitoingredientes y otros productos naturales*. Eudeba. 2016. Argentina.
- Ferreira, R. (1986). *Flora del Perú: Dicotiledóneas*. Lima. [s.n]
- Francia Robles. *21 Plantas Nativas del Perú Muy Interesantes*. 2017. <https://www.lifeder.com/plantas-nativas-peru/> . Perú.
- Galeano Lesme, N. G. *Evaluación de la producción forrajera de tanzania (Panicum máximum Jacq. Cv. Tanzania) manejado a distintos niveles de altura*. 2016. Paraguay.
- García, Á., & Carril, P. *Metabolismo secundario de plantas*. Reduca (biología), 2(3). 2011. España.
- González A. *Obtención De Aceites Esenciales Y Extractos Etanólicos De Plantas Del Amazonas*. 2014. Colombia.
- González, H. D. *Metodología de la investigación: propuesta, anteproyecto y proyecto*. Ecoe Ediciones. 2016. Colombia.
- Gutiérrez G, Scull L. García G. Montes Á. (2018) *Evaluación farmacognosia, - fotoquímica y biológica de un extracto hidroalcohólico de Tagetes lucida Cavanilles*. Cuba.

- Guerra A. *Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los extractos fluidos, blandos y secos, así como de las tinturas del rizoma y de la fronda de calaguala (phlebodium pseudoaureum) a nivel de laboratorio.* 2017. Guatemala. Disponible en: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08\\_0951\\_Q.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_0951_Q.pdf)
- Guevara E. (2018). *Evaluación de la actividad antimicrobiana "in vitro" del extracto hidroetanólico de hojas de Origanum majorana en cepas de proteus spp* (Master's thesis).
- Huamán Y. y Soto Y. *Determinación De La Actividad Antibacteriana In Vitro De Los Geranium Sessiliflorum "Ojotillo" Frente A. Staphylococcus Aureus Cepa Atcc Y Escherichia Coli Cepa Atcc Y.* 2016. Perú. URI: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/UNSAAC/1712> .
- Hurtado, M. P.\*; de la Parte, M. A.\* y Brito, A. *Staphylococcus aureus: Revisión de los mecanismos de patogenicidad y la fisiopatología de la infección estafilocócica.* 2002. Venezuela.
- Iza, A., & de los Ángeles, Z. *Utilización de los pétalos de rosa en la elaboración de cocteles con alcohol, en la Facultad de Salud Pública, Escuela de Gastronomía de la ESPOCH de septiembre 2012 a febrero 2013* (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo). 2014. Ecuador.
- Jackson, C., Machado, A., & Hamilton, L. *Principios generales de la terapéutica antimicrobiana.* Acta médica, 8(1), 13-27. 1998. Cuba.
- Jerez, J. *Estudio de la presencia de microorganismo en la manga activa del mandil blanco del odontólogo* (Bachelor's thesis, Universidad de Guayaquil. Facultad Piloto de Odontología). 2014. Ecuador.
- Jurado B., Aparcana I., Inca, S., Ramos E., Calixto M. & Acosta A. K. *Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (Physalis peruviana L.) de diferentes lugares del Perú.* Revista de la sociedad química del Perú, 82(3), 272-279. 2016. Lima. Perú.
- López E. 2010. *Estudio De Aceites Esenciales En La Especie Tagetes Elliptica Smith (chinche).* Lima - Perú.
- Luján DA. *Staphylococcus aureus resistente a meticilina asociado a la comunidad: aspectos epidemiológicos y moleculares.* An Fac Med 2013; 74:57-62. Perú.

- Márquez, C., & Vázquez, J. *Stop radicales libres: 150 recetas antioxidantes*. Edaf. 2016. España.
- Martínez O., M. *Resistencia a los antibióticos de las enfermedades infecciosas más prevalentes en la historia y el rol de enfermería*. 2018. Colombia.
- Melgarejo V. *Uso De Residuos Sólidos De La Industrialización Del Camu Camu (Myrciaria Dubia H.B.K. Mc Vaugh) Para La Extracción De Compuestos Fenólicos*. 2018. Lima. Perú.
- Molina, X., Torres, G., Castañeda, D., Duran, C., Leyte, A., González, B., Pérez, J., Soria, O., Palacios, J. (2018). Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica, Laboratorio de Síntesis y Aislamiento de Sustancias Bioactivas. Departamento de Sistemas Biológicos, Herbario, Departamento de Producción Agrícola y Animal, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (UAM-X), Calzada del Hueso 1100, Col Villa Quietud, Alcaldía de Coyoacán, CDMX 04960, México. [jpalacios@correo.xoc.uam.mx](mailto:jpalacios@correo.xoc.uam.mx).
- Moreno, C., González, R., & Beltrán, C. *Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios*. *Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello*, 69(2), 185-192. 2009. Chile.
- Morosini A., Cantón R. Changes in bacterial hospital epidemiology. *Rev Esp Quimioter* 2018;31(Suppl. 1):23-6. España.
- Muñoz-Bernal, Ó. Torres-Aguirre, A., Núñez-Gastélum, A., Rosa, A., Rodrigo-García, J., Ayala-Zavala, J. & Álvarez-Parrilla, E. (2017). *Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo de Folin-Ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales*. *TIP*. Revista especializada en ciencias químico-biológicas, 20(2), 23-28.
- Murga-Gutiérrez, S. (2007). *Nemátodos Fitoparásitos asociados al cultivo de Tagetes erecta en el distrito Virú*. Perú: la libertad. Neotrop. Helminthol-
- Hernández-De Lira, O., & Huber, M., L. E. *Metagenómica: Concepto y Aplicaciones en el Mundo Microbiano*. Fronteras En Microbiología Aplicada, 154. <https://biologicaliga.files.wordpress.com/2008/08/bacteria2010>
- Ortega de los Ríos, L. *Biotransformación de esteroides por "Aspergillus nidulans" y otras especies fúngicas= Steroid biotransformation by "Asperillus nidulans" and other fungal species*. 2018. España.

- Pabón, C., & Hernández-Rodríguez, P. *Importancia química de Jatropha curcas y sus aplicaciones biológicas, farmacológicas e industriales*. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 17(2), 194-209. 2012. Cuba.
- Pacheco, C., & Lenin, M. *Uso y manejo de antimicrobianos en pacientes ingresados al área de emergencia del Hospital General Isidro Ayora de Loja* (Bachelor's thesis). 2018. Ecuador.
- Palacios M. *Farmacognosia Y Fotoquímica Escuela De Farmacia Y Bioquímica Docente*. (2013). Ecuador.
- Paredes F., V. *Complicaciones de las infecciones respiratorias agudas por administración empírica de fármacos en pacientes pediátricos* (Bachelor's thesis). 2012. Ecuador.
- Pedraza P. y Castellanos H. *Estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibióticos de administración intravenosa a través de métodos in vitro. Parte x Cefoperazona – sulbactam*. 2009. Colombia.
- Peña A., Paco O. *Medicina Alternativa: Intento De Análisis*. Anales De La Facultad De Medicina Universidad Nacional Mayor De San Marcos. 2017. Perú. [Www.Scielo.Org.Pe/Pdf/Afm/V68n1/A12v68n1](http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/V68n1/A12v68n1)
- Pimentel R, Castillo A, Quintana Del S, Mautua T, Villegas V, Díaz S. (2015) *Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal*. [s.n] Lima-Peru.
- Prescott ML, Harley JP y Klein DA. *Microbiología*, 4a. Ed. McGraw-Hill Interamericana; 713 y 812. 1999. Estados Unidos.
- Ramírez C., & Josue O. *Actividad antioxidante y contenido de polifenoles en flor de Cordia lutea Lam (flor de overo)*. 2018. Chimbote, Perú.
- Rivero, D. *Metodología de la investigación*. 2013. Colombia.
- Rodríguez, Egas, Linares, Hernández, Espinosa, Delgado. (2017). *Usos etnomédicos, constituyentes químicos y propiedades biológicas*. J Ethnopharmacol. Mexico. [s.n].
- Rodríguez R., M. (2015) *Estudio Comparativo De La Actividad Antimicrobiana De Diferentes Presentaciones Comerciales De Antibióticos De Administración Intravenosa A Través De Métodos In Vitro. Parte Vi Cefepime Clorhidrato Establecimiento De La Metodología De Análisis*. Colombia.
- Rodríguez C. Egas V, Linares E, Delgado G, (2016) *Estudio de Árnica mexicana (Heterotheca inuloides Cass. Asteraceae Astereae.Mexico*.

- Rogel V., M. *Respuesta de tres variedades de lechuga (Lactuca sativa L.) a cuatro soluciones nutritivas, bajo condiciones hidropónicas en invernadero* (Bachelor's thesis, Quito: UCE). 2018. Ecuador.
- Rojas, J., García, M., & López, J. (2005). *Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 4(2), 28-32.
- Román Yesid Ramírez, Diana Natalia Mojica Ávila, Mery Isabel Espitia. *Actividad antibacteriana de extractos de plantas provenientes del área rural de Soracá contra Staphylococcus aureus resistente a meticilina (SARM)* Vol. 7 Núm. 1 (2015): Revista Ciencia Y Salud Virtual Doi 10.22519/21455333.469 Publicado: Jun 30 (2015)
- Romero Lozano, C. A. *Elaboración de macerados y mistelas con especies vegetales disponibles en la provincia del azuay* (Bachelor's thesis). 2013. Ecuador.
- Ruiz Cruz, R. *Efecto alelopático de especies de la familia Asteraceae sobre nemátodos fitopatógenos en híbridos de pimiento bajo cultivo protegido* (Doctoral dissertation, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Agronomía). 2017. Cuba.
- Sánchez R, Humala R, Burneo R, Castro S, Paredes A, Loja, H. (2017). *Actividad antioxidante y marcha fitoquímica de los capítulos de Tagetes filifolia Lag. "pacha anís"*. [s.n] Lima-Perú.
- Sánchez, J (2018). *Efecto del aceite esencial de las hojas del Tagetes minuta (huacatay) sobre la actividad antimicrobiana frente a cepas de Staphylococcus aureus ATCC 6538*. Lima- Perú.
- Seral C, Barcia-Macay M, Migeot-Leclercq MP. Comparative activity of quinolones (ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin and garenoxacin) against extracellular and intracellular infection by *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in J774 macrophages. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55: 511-517.
- Silva N., Microsoft PowerPoint - *Plantas Medicinales, Seminario Final*. 2016. Brasil.
- Silva Valarezo, L. A. (2016) *El efecto antiinflamatorio de la infusión de manzanilla en tejidos bucales y su uso en cirugía de terceros molares como solución para lavado alveolar* (Bachelor's thesis, Universidad de Guayaquil. Facultad Piloto de Odontología) Ecuador.
- Soria y Ramos. *Medicinales Sobre La Línea Celular De Carcinoma De Pulmón Humano A54*.2011. La Habana, Cuba.



- Souza T, Santos M, Silveira L. (2018). *Diversidad de parasitoides en pimiento dulce orgánico (Capsicum annuum) asociado con albahaca (Ocimum basilicum) y caléndula (Tagetes erecta)*. Brasil. [s.n].ISSN 1678-4375
- Taco, D., & Hugo, V. *Determinación de Agentes Patógenos Causantes de Neumonías y su Relación con Resistencia Bacteriana en la Unidad de cuidados Intensivos del Hospital Docente Ambato*. 2016. Ecuador.
- Tenazoa Chuquizuta, G. L., López, Z., & Solansh, E. *Uso de los celulares y su efecto en la trasmisión de bacterias en el servicio de UCI-Neonatología del Hospital II-2-Tarapoto. enero-junio 2017*. (2017). Perú.
- Thorne, R. y Reveal, J. (2007). *An updated classification of the class Magnoliopsida*. (1ra Ed). Nueva York: Enero: NYBG Press
- Tovar Caisapanta, V. E. *Actividad antibacteriana y antioxidante del aceite esencial extraído del tronco y corteza de la especie Handroanthus chrysanthus (Guayacán)* (Bachelor's thesis, Quito: UCE). 2018. Ecuador.
- Velásquez D. (2017) *Evaluación de la actividad antimicrobiana, antioxidante y citotoxicidad de los extractos etanólico y acuoso de Tagetes multiflora kunth "chinche"*. Lima – Perú
- Velásquez V. (2017) *Evaluación de la actividad antimicrobiana, antioxidante y citotoxicidad de los extractos etanólico y acuoso de Tagetes multiflora kunth "chinche"*. [s.n]Lima- Perú.
- Viñán Andino, A. B. *Diseño Estadístico Experimental para el Estudio de la Respuesta <sup>-1-1</sup> Maíz (Zea Mays L.) a la Aplicación Edáfica Complementaria de Tres Tipos de Ab Sintético a Dos Dosis en la Comunidad de Peñas, Cantón Tiwintza, Provincia de Morona Santiago* (Bachelor's thesis). 2012. Ecuador.
- Yamilet Gutiérrez Gaitén, Ramón Scull Lizama, Gastón García Simón, Amanda Montes Álvarez. (2018). vol.23, *Evaluación farmacognóstica, fitoquímica y biológica de un extracto hidroalcohólico de Tagetes lucida Cavanilles*. Gutiérrez vol.23. [s.ns].

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIÓN
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL		
¿la caracterización química del extracto etanólico de hojas <i>Tagetes elliptica Smith</i> “Chincho” tendrá relación con la determinación antibacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	. Verificar si la caracterización química del extracto etanólico de hojas <i>Tagetes elliptica Smith</i> “Chincho” tendrá relación con la determinación antibacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	La caracterización química del extracto etanólico de hojas <i>Tagetes elliptica Smith</i> “Chincho” tiene relación con la actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	<b>Variable 1</b>  Extracto etanólico de <i>Tagetes elliptica Smith</i> (chincho)	<b>Tamizaje fitoquímico</b>  Flavonoides Esteroides Taninos Alcaloides Cardenolidos Triterpenos Quinolinas Leucoantocianidina Aminoácidos
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	<b>Variable 2</b>  Actividad antibacteriana	<b>Concentración de Polifenoles:</b>  Longitud del crecimiento de las radículas e hipocótilos de las semillas  Efecto del extracto etanólico <i>Tagetes elliptica Smith</i> (chincho), frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.
¿El extracto etanólico de <i>Tagetes elliptica Smith</i> (Chincho) presentara alelopatía (citotoxicidad) en una concentración de 30mg/ml. de frente a semillas de <i>Lactuca sativa</i> ?	Determinar si el extracto etanólico de <i>Tagetes elliptica Smith</i> (Chincho) presentara alelopatía (citotoxicidad) en una concentración de 30mg/ml. de frente a semillas de <i>Lactuca sativa</i> .	El extracto etanólico de <i>Tagetes elliptica Smith</i> (Chincho) presenta alelopatía (citotoxicidad) en una concentración de 30mg/ml. de frente a semillas de <i>Lactuca sativa</i> .		
¿El extracto etanólico de <i>Tagetes elliptica Smith</i> (Chincho) presentara actividad antibacteriana en una concentración de 100% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	Determinar si el extracto etanólico de <i>Tagetes elliptica Smith</i> (Chincho) presentara actividad antibacteriana en una concentración de 100% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	El extracto etanólico de <i>Tagetes elliptica Smith</i> (Chincho) presenta actividad antibacteriana en una concentración de 100% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.		

## Anexos

### Anexo A: Matriz de Consistencia

TITULO: “La Caracterización Química del Extracto Etanólico de Hojas *Tagetes elliptica smith* (Chincho) y determinación de Actividad Antibacteriana in vitro frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

**Anexo B: Instrumentos****Ficha técnica 1:** Marcha fitoquímica del extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith*  
(Chincho)

<b>FRACCIÓN</b>	<b>REACTIVO</b>	<b>METABOLITO</b>	<b>RESULTADOS</b>
<b>A</b>	Rvo. Ninhidrina	Aminoácidos	
	Rvo. Gelatina	Taninos	
	Rvo. Tricloruro Férrico	Taninos	
	Rvo. Shinoda	Flavonoides	
<b>B</b>	Rvo. Libermann Burchard	Esteroides	
	Rvo. Bomtrager	Quinonas	
	Rvo. .Kedde	Cardenólidos	
<b>C</b>	Rvo. Libermann Burchard	Esteroides	
	Rvo. Mayer	Alcaloides	
	Rvo. Dragendorff	Alcaloides	
	Rvo. Shinoda	Flavonoides	
<b>D</b>	Rvo. Rosenheim	Leucoantocianidinas	
	Rvo. Kedde	Cardenólidos	
	Rvo. Libermann Burchard	Esteroides	
	Rvo. Mayer	Alcaloides	
<b>E</b>	Rvo. Rosenheim	Alcaloides	

**Ficha técnica 2:** Preparación para determinar polifenoles Totales.

N° ENSAYO	REACTIVOS			
	mL	H <sub>2</sub> O <sub>d</sub> (ml)	NaCO <sub>3</sub> 20%(ml)	Rvo. Folin Ciocalteu (ml)
BLANCO				
1				
2				
3				

**Ficha técnica 3:** Preparación de la Curva de Calibración para Determinar polifenoles Totales con Ácido Gálico.

ENSAYOS	REACTIVOS			
	mL	H <sub>2</sub> O <sub>d</sub> (ml)	NaCO <sub>3</sub> 20%(ml)	Rvo. Folin Ciocalteu (ml)
BLANCO				
50mg/1mL				
75mg/1mL				
100mg/1mL				
150mg/1mL				
200mg/1mL				

**Ficha técnica 4:** Resultado de Citotoxicidad del Extracto Etanólico de hojas  
*Tagetes elliptica Smith* “Chincho” en semillas de *Lactuca sativa*.

[ ] EXT. ET.	CONTROL	100	30	10	3 mg.	1 mg.	0,3	0,1
	R (mm)	mg. R (mm)	mg. R (mm)	mg. R (mm)	R (mm)	R (mm)	mg R (mm)	mg R (mm)
MUESTRAS								
PROMEDIO								
E. STR.								
DES. EST.								

**Ficha técnica 5:** Ensayos de Citotoxicidad del Extracto Etanólico de hojas  
*Tagetes elliptica Smith* “Chincho” en semillas de *Lactuca sativa*.

mg	EXTRACTO	SOLVENTE (Etanol 96°)	V <sub>F</sub>	DILUCIONES
0,1				
0,3				
1,0				
3,0				
10				
30		----	----	

**Ficha técnica 6:** Actividad Antibacteriana in vitro del Extracto Etanólico de hojas *Tagetes elliptica Smith* “Chincho” frente a *Staphylococcus aureus* ATC 25923.

CDG	Concentración	DIAMETRO DE HALO (mm)					Promedio	Desviación Estándar
		Placa I	Placa II	Placa III	Placa IV	Placa V		
1	Control (E 96°)							
2	E. E. 100 %							
3	E.E. 90%							
4	E.E. 80%							
5	E.E. 70 %							
6	E.E. 60 %							
7	E.E. 50 %							
8	E.E. 40 %							
9	E.E. 30 %							
10	E.E. 20 %							
11	E.E. 10%							
12	CEFT 1 g. + Agua Estèril							

## Anexo C: Data de Consolidado

### Data 1

Tabla 19:

*Metabolitos secundarios del extracto etanólico de hojas Tagetes elliptica Smith*

FRACCIÓN	REACTIVO	METABOLITO	RESULTADO	EQUIVALENTE
A	Ninhidrina	Aminoácidos	(-)	0
A	Gelatina	Taninos	(++)	2
A	Tricloruro férrico	Fenoles	(+++)	3
A	Shinoda	Flavonoides	(+++)	3
B	Lieberman Burchard	Esteroides	(+++)	3
B	Lieberman Burchard	Triterpenos	(++)	2
B	Bomtrager	Antraquinonas	(+)	1
C	Kedde	Cardenólidos	(+)	1
C	Lieberman Burchard	Esteroides	(+++)	3
C	Lieberman Burchard	Triterpenos	(-)	0
C	Mayer	Alcaloides	(-)	0
C	Dragendorff	Alcaloides	(-)	0
D	Shinoda	Flavonoides	(-)	0
D	Rosenheim	Leuco-antocianidinas	(-)	0
D	Kedde	Cardenólidos	(+++)	3
D	Lieberman Burchard	Esteroides	(+)	1
D	Lieberman Burchard	Triterpenos	(+)	1
D	Mayer	Alcaloides	(-)	0
E	Shinoda	Alcaloides	(-)	0
E	Rosenheim	Leuco-antocianidinas	(-)	0

En la tabla, se observa el contenido de metabolitos secundarios que posee el extracto etanólico de hojas *Tagetes elliptica smith*, tanto en mayor como en menor proporción. Fuente: propia.

**Data 2**

Tabla 20:

*Muestra las absorbancias y promedios de polifenoles en el extracto etanólico de hojas Tagetes elíptica Smith.*

concentracion	abs	mg/10ml	mg/100ml
repeticion 1	0,811	3,262	32,6248672
repeticion 2	0,796	3,209	32,0935175
repeticion 3	0,745	3,029	30,2869288

En la tabla se observa el promedio de las absorbancias del extracto etanólico en tres repeticiones (1,2 y 3). Fuente: propia.

**Data 3**

Tabla 21:

*Efecto citotóxico del extracto etanólico de hojas de Tagetes elíptica Smith "Chincho" en semillas de Lactuca sativa: "Radículas"*

[ ] E.E.	Control	100mg	30mg	10mg	3mg	1mg	0,3mg	0,1mg
	R (mm)	R (mm)	R(mm)	R(mm)	R(mm)	R(mm)	R(mm)	R(mm)
	10	2	2	6	10	6	9	10
	9	1	1	2	5	5	9	15
	9	1	1	2	5	10	10	5
	8	2	1	2	5	5	5	5
	9	1	1	2	6	5	5	10
<b>Prom</b>	9	1,4	1,2	2,8	6,2	6,2	7,6	9
<b>Des.Est.</b>	0,71	0,55	0,45	1,79	2,24	2,17	2,41	4,18

Se visualiza en la tabla, el crecimiento de las radículas (mm), en diferentes concentraciones, cada una con 5 repeticiones. Con sus respectivos promedios y desviación estándar. Fuente: Propia



**Data 4**

Tabla 22:

*Efecto citotóxico del extracto etanólico de las hojas de Tagetes elliptica Smith “Chincho” en semillas de Lactuca sativa: “Hipocótilos”.*

[ ] E.E.	Control	100mg	30mg	10mg	3mg	1mg	0,3mg	0,1mg
	H (mm)	H (mm)	H(mm)	H(mm)	H(mm)	H(mm)	H(mm)	H(mm)
	5	2	3	4	10	10	7	10
	4	2	2	3	10	8	9	10
	5	1	2	3	4	5	9	9
	4	2	2	3	4	9	7	10
	5	1	2	4	5	5	6	9
<b>Prom</b>	4,6	1,6	2,2	3,4	6,6	7,4	7,6	9,6
<b>Des.Est.</b>	0,55	0,55	0,45	0,55	3,13	2,30	1,34	0,55

La tabla indica, la alelopatía del hipocótilo (mm), en concentraciones diferentes (con 5 repeticiones cada concentración). También señala los promedios y desviación estándar. Fuente: Propia

**Data 5**

Tabla 23:

*Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de Tagetes elliptica Smith (Chincho) frente a Staphylococcus aureus ATCC 25923.*

Código	Concentración	Diámetro del halo (mm)					Promedio
		Placa I	Placa II	Placa III	Placa IV	Placa V	
1	<b>Control Etanol 96%</b>	0,83	1,88	1,27	0,95	2,90	1,57
2	<b>E.E. 100%</b>	3,49	3,96	3,48	3,67	4,22	3,76
3	<b>E.E. 90%</b>	3,36	3,35	3,36	3,21	2,98	3,25
4	<b>E.E. 80%</b>	3,37	3,12	3,36	2,44	3,59	3,17
5	<b>E.E. 70%</b>	1,12	3,27	3,53	2,00	2,90	2,56
6	<b>E.E. 60%</b>	0,95	0,95	3,16	1,19	3,70	1,99
7	<b>E.E. 50%</b>	0,83	0,99	1,39	1,12	2,66	1,40
8	<b>E.E. 40%</b>	1,90	0,90	1,90	1,10	0,80	1,32
9	<b>E.E. 30%</b>	0,95	1,29	1,68	1,29	0,94	1,23
10	<b>E.E. 20%</b>	0,97	0,79	0,96	1,35	1,65	1,14
11	<b>E.E. 10%</b>	0,87	1,20	1,31	1,10	1,10	1,12
12	<b>Cef. 1g + Agua estéril</b>	3,58	7,42	6,25	5,80	7,66	6,14

La tabla muestra el diámetro del halo (mm) del extracto etanólico de hojas Tagetes elíptica Smith, en diferentes concentraciones (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 y 10 %) + medicamento (ceftriaxona 1g) y un control (etanol 96%). Cada uno con 5 repeticiones (placas), así como los promedios de las concentraciones mencionadas. Fuente: propia.

### Anexo D: Cronograma del Programa Experimental

PROCEDIMIENTOS	OCTUBRE 2019			
Experimento 1	SEM 1	SEM 2	SEM 3	SEM 4
1. Preparación del extracto etanólico de <i>tagetes elliptica smith (chincho)</i>	x			
2. Análisis fitoquímicos y recolección de datos		x		
3. Preparación de la Prueba (A, B) del análisis			x	
Experimento 2	Noviembre 2019			
4. Preparación de la Prueba (C, D) del análisis		x	x	
5. Preparación de la Prueba (E) del análisis				x
Experimento 3	Diciembre 2019			
6. Ensayo de solubilidad	x			
7. Espectrofotometría UV			x	
8. Citotoxicidad (preparación de la muestra, medida de los hipocótilos y radículas)		x	x	x
9. Determinación de polifenoles totales			x	
10. Curva de Calibración				x
Experimento 4	Enero 2020			
11. Esterilización de materiales y elaboración de medio de cultivo.	x			
12. Elaboración de inóculo bacteriano	x			
13. Formación de concentraciones de extracto vegetal.	x			
14. Análisis de sensibilidad antimicrobiana	x			
15. Resultados, análisis estadísticos		x		
16. Discusión de los resultados		x		
17. Presentación de la Tesis.		x		

## Anexo E: Testimonios Fotográficos

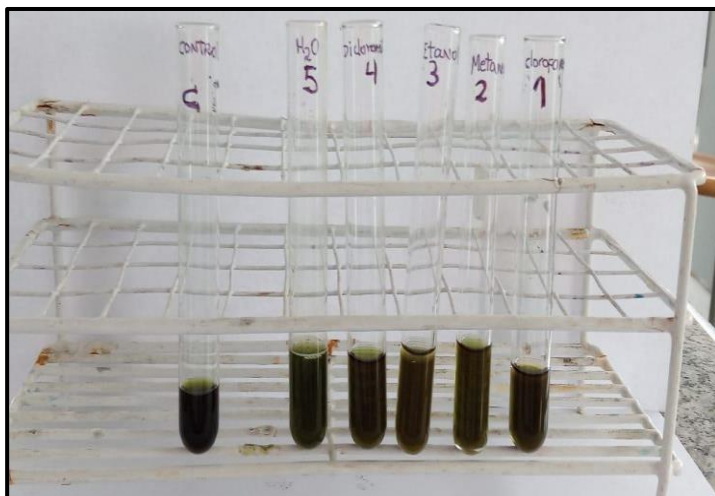




Figura SEQ Figura \\* ARABIC 38: Discos de papel Watman. Para ser impregnados en las placas petri, para la identificación bacteriana



Figura SEQ Figura \\* ARABIC 39: Ceba *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Inoculo bacteriano listo para ser utilizado. Fuente: Elaboración propia.



Figura SEQ Figura \\* ARABIC 40: Implementos dentro de la cabina de flujo laminar BIOFASE. Donde se procedió a esterilizar los materiales para la actividad



Figura SEQ Figura \\* ARABIC 41: Sembrado de discos con la cepa *Staphylococcus aureus*. Procedimiento, discos impregnados dentro de la placa petri, (contenía el agar, Müller Hilton). Fuente: Elaboración propia.



Figura SEQ Figura \\* ARABIC 42: Bioseguridad en el ensayo antibacterial. Condiciones de bioseguridad para realizar el sembrado de los discos. Fuente: Elaboración propia.



Figura SEQ Figura \\* ARABIC 43: Cabina de flujo laminar BIOFASE. De la Universidad Interamericana para el Desarrollo, (Control de temperatura, humedad, luz, ventilador, movimiento de la puerta automático). Fuente: Elaboración propia.

## Anexo F: Juicio de Expertos

## FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

## I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y nombres del experto: SILVANA SH ZAVALA
- 1.2 Grado académico: DOCTORA
- 1.3 Cargo e institución donde labora: UNID
- 1.4 Título de la Investigación: Tacetos elíptica Smith "Chucho"
- 1.5 Autor del instrumento: UNID
- 1.6 Nombre del instrumento: Marcha fotoquímica Polifenoles totales, Citotoxicidad

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelente 81-100%
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				✓	
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.				✓	
3. ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.			✓		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.				✓	
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.				✓	
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.				✓	
7. CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.				✓	
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.			✓		
9. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.				✓	
10. CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.				✓	
SUB TOTAL						
TOTAL						

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 76% = 1

VALORACION CUALITATIVA: Muy Buena

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aplicable

Lugar y fecha: Breña 17 Enero 2020

Firma y Posfirma del experto  
DNI: 569978



## FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

## I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y nombres del experto: ROQUE MARROQUIN MARIA SUSANA  
 1.2 Grado académico: MAESTER  
 1.3 Cargo e institución donde labora: DOCENTE UNID  
 1.4 Título de la Investigación: TAGETES ELIPTICA SMITH "CHINCHO"  
 1.5 Autor del instrumento: UNID  
 1.6 Nombre del instrumento: MANCHA FITOQUIMICA POLIFENOLICAS TOTALES  
CITOTOXICIDAD

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficient e 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelent e 81- 100%
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				✓	
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.				✓	
3. ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.			✓		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.				✓	
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.				✓	
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.			✓		
7. CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.				✓	
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.				✓	
9. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.				✓	
10. CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.				✓	
SUB TOTAL						
TOTAL						

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 78%  
 VALORACION CUALITATIVA: MUY BUENO  
 OPINIÓN DE APLICABILIDAD: APLICABLE

Lugar y fecha: BREÑA, 17 DE ENERO 2020

  
 Firma y Posfirma del experto  
 DNI: 02580373

**FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS****I. DATOS GENERALES**

- 1.1 Apellidos y nombres del experto: RONALD MAURICIO TARAZONA DELGADO  
 1.2 Grado académico: MAGISTER EN BIOLOGÍA VEGETAL, LICENCIADO EN BIOLOGÍA  
 1.3 Cargo e institución donde labora: JEFE DE LABORATORIO – UNID  
 1.4 Título de la Investigación: CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Tagetes elliptica* SMITH (CHINCHO) Y DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* FRENTE A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923  
 1.5 Autor del instrumento: BACH. MARÍA CAMPOS CHÁVEZ, BACH. CELINA SERAFÍN GALAN  
 1.6 Nombre del instrumento: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTO VEGETAL

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelente 81-100%
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				80%	
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.				80%	
3. ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.				80%	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.				80%	
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.				80%	
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.				80%	
7. CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.				80%	
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.			60%		
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio.					90%
10. CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					90%
SUB TOTAL		-	-	60%	560%	180%
TOTAL				800%		

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 16  
 VALORACION CUALITATIVA: MUY BUENO  
 OPINIÓN DE APLICABILIDAD: APLICABLE

Lima, 20 de enero de 2020

Firma y Posfirma del experto  
 DNI: 73810968

RONALD M. TARAZONA DELGADO

## Formato para Microbiología

Requerido para todas las investigaciones que involucren Microorganismos, ADN y tejido fresco, sangre y fluidos del cuerpo.  
(Es necesario la aprobación del CRC, antes que se inicie la experimentación)

Nombres de los Tesistas MAIRA CAMPOS CHAVEZ  
 Título de la TESIS Caracterización Cromática del Recurso Estabólico de las Hojas de Tagetes elliptica SMITH (Cauacito) y DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO FRENTE A Staphylococcus aureus ATCC 25923

Deberá ser completado por el estudiante investigador en colaboración con el Científico Calificado / Supervisor Designado  
(Todas las preguntas son aplicables y tienen que ser respondidas; se pueden adjuntar páginas adicionales)

- 1) Identificar los agentes biológicos potencialmente dañinos que serán usados en este experimento. Incluir la fuente, la cantidad y el Nivel de Bioseguridad (NBS) en los grupos de riesgo de cada microorganismo.
- 2) Describir el lugar de experimentación incluyendo el nivel de contención biológico.
- 3) Describir el método de disposición de todos los materiales de cultivo y otros agentes biológicos potencialmente dañinos.
- 4) Describir los procedimientos que serán usados para minimizar riesgos (equipo y vestuario de protección personal).
- 5) ¿Qué nivel final de Bioseguridad (NBS) recomiendas para este proyecto. Dar la evaluación de riesgo que has realizado?.

Será completado por el científico calificado o el supervisor designado

- 1) ¿Qué entrenamiento el estudiante recibió para realizar este proyecto?  
*Normas de bioseguridad, Técnicas de cultivo bacteriano, Actividad antimicrobiana de medicamentos y extractos vegetales*
- 2) ¿Estuvo de acuerdo con la información y la recomendación de bioseguridad proporcionada por el estudiante en la parte inicial de este formato? Si la respuesta es NO por favor explicar.  SI  NO

[Firma]  
Nombre del Biólogo/Microbiólogo

Mg. Blgo:

Ronald Delgado  
Forzono Delgado  
DNI: 73810963

Mairy Campos Ch.  
Nombres y Apellidos del Tesista

[Firma]  
Nombres y Apellidos del Tesista

20-01-2020

Fecha

## Formato para Microbiología

Requerido para todas las investigaciones que involucren Microorganismos, ADN y tejido fresco, sangre y fluidos del cuerpo.  
(Es necesario la aprobación del CRC, antes que se inicie la experimentación)

Nombres de los Tesistas CELINA SERSEFIN GALAN

Título de la TESIS

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE Tagetes elliptica SMITH (CUNCHO) Y DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO FRENTE A Staphylococcus aureus ATCC 25923

Deberá ser completado por el estudiante investigador en colaboración con el Científico Calificado / Supervisor Designado (Todas la preguntas son aplicables y tienen que ser respondidas; se pueden adjuntar páginas adicionales)

- 1) Identificar los agentes biológicos potencialmente dañinos que serán usados en este experimento. Incluir la fuente, la cantidad y el Nivel de Bioseguridad (NBS) en los grupos de riesgo de cada microorganismo.
- 2) Describir el lugar de experimentación incluyendo el nivel de contención biológico.
- 3) Describir el método de disposición de todos los materiales de cultivo y otros agentes biológicos potencialmente dañinos.
- 4) Describir los procedimientos que serán usados para minimizar riesgos (equipo y vestuario de protección personal).
- 5) ¿Qué nivel final de Bioseguridad (NBS) recomiendas para este proyecto. Dar la evaluación de riesgo que has realizado?.

Será completado por el científico calificado o el supervisor designado

- 1) ¿Qué entrenamiento el estudiante recibió para realizar este proyecto?  
Normas de Bioseguridad, Técnicas de cultivo bacteriano, Actividades antimicrobianas de medicamentos y extractos vegetales
- 2) ¿Estuvo de acuerdo con la información y la recomendación de bioseguridad proporcionada por el estudiante en la parte inicial de este formato? Si la respuesta es NO por favor explicar.  SI  NO

Nombre del Biólogo/Microbiólogo

Mg. Blgo:

Ronald Mauricio  
Parojan Delgado  
DNI: 73810968

Nombres y Apellidos del Tesista

Nombres y Apellidos del Tesista

20-01-2020

Fecha

Lima, 20 de enero de 2020

Sr(a).

Facultad de Ciencias de la Salud

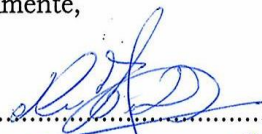
Universidad Interamericana para el Desarrollo

Tengo el agrado de dirigirme a Ud. e informarle que la Bach. María Campos Chávez y la Bach. Celina Serafín Galán ejecutaron el análisis estadístico de su tesis bajo mi supervisión, por lo que doy fe que sus datos y posteriores resultados fueron sometidos a un tratamiento estadístico estricto y correcto.

El análisis estadístico se encuentra bajo el formato específico de tablas y gráficos, correspondientes a la naturaleza de los datos obtenidos.

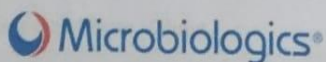
Sin ningún otro adicional, me despido, renovando los sentimientos de mi mayor consideración.

Atentamente,



Mg. Ronald M. Tarazona Delgado

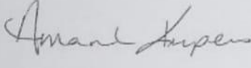
DNI: 73810668



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> Microorganism Name: <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-419** Reference Number: ATCC® 25923™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2020/10/31 Release Information: Quality Control Technologist: Kieshia L. Negen Release Date: 2018/11/29
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

<b>Macroscopic Features:</b> Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic <b>Microscopic Features:</b> Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	<b>Performance</b> <b>Medium:</b> SBAP <b>Method:</b> Gram Stain (1)
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------

<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
-----------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

\*\*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.



Ficha técnica del *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Widobio

**Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results**

**BRUKER**

**Meaning of Score Values**

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

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

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

Sample Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus  
 Sample Description: 0360  
 Sample ID: 360-419  
 Sample Creation Date/Time: 2018-11-21T09:07:19.931klm  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C8 (+++)(A)	360-419	Staphylococcus aureus	2.49

Comments:  
N/A



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
 Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
 VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

## CONSTANCIA N° 039-USM-2019

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (raíz, tallo y hojas) recibida de **CELINA ISABEL SERAFIN GALAN Y MARIA DEL ROSARIO CAMPOS CHAVEZ**, estudiantes de la Universidad Interamericana para el Desarrollo, ha sido estudiada y clasificada como: ***Tagetes elliptica Sm.***, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: ASTERIDAE**

**ORDEN: ASTERALES**

**FAMILIA: ASTERACEAE**

**GENERO: Tagetes**

**ESPECIE: *Tagetes elliptica Sm.***


Nombre vulgar.: "Chincho"

Determinado por: Mg. Hamilton Wilmer Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 11 de febrero de 2019



  
 Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA  
 JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/yhr.